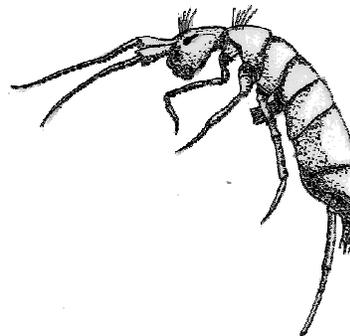




ATTI DEL CONVEGNO NAZIONALE

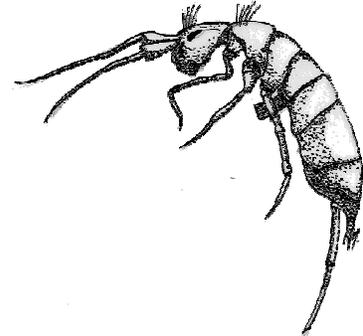


LA CONOSCENZA DELLA QUALITÀ DEL SUOLO ATTRAVERSO L'UTILIZZO DI INDICATORI BIOLOGICI ED ECOTOSSICOLOGICI

Torino, 13 maggio 2004



Atti del Convegno Nazionale Torino 13 maggio 2004



La presentazione della Guida Tecnica sui metodi biologici ed ecotossicologici ha fornito l'occasione di promuovere una giornata di confronto tra le diverse competenze tecniche e scientifiche che operano nell'ambito della biologia del suolo.

Il convegno si proponeva di fare il punto sull'utilizzo di indicatori biologici per valutare la qualità dei suoli, sia in riferimento alla necessità di avviare una rete di monitoraggio nazionale sul suolo sia come possibile contributo alla gestione dei siti contaminati, in relazione all'analisi di rischio ecologico. Negli ultimi anni l'attenzione del mondo scientifico su questi argomenti è sicuramente aumentata e, in tale ambito, si inquadra anche l'attività che il Centro Tematico Nazionale *Suolo e Siti Contaminati*, ora CTN *Territorio e Suolo*, ha svolto in questi anni, dedicando una particolare attenzione agli indicatori biologici ed ecotossicologici.

Il lavoro del CTN TES ha trovato concretizzazione nella proposta di Guida Tecnica, che si rivolge specificatamente a coloro che hanno il compito di valutare lo stato di salute del suolo per diffondere quanto più possibile le conoscenze acquisite tra gli operatori del settore e poter effettuare una valutazione della qualità del suolo e dei siti contaminati basata su metodologie comuni per una comprensione univoca e uniforme.

In questo volume vengono raccolte le relazioni presentate nell'ambito del Convegno di Torino, che sicuramente dimostrano il grande interesse esistente per la qualità biologica del suolo sia a livello accademico sia a livello agenziale.

Indice

Vincenzo Cocco – Saluto introduttivo	4
Marisa Amadei - Saluto introduttivo	6
Renzo Barberis, Antonio Pugliese - Attività in corso da parte del CTN TES per approfondire la conoscenza sui suoli	7
Luciano Onori, Carmine Siniscalco, Carlo Jacomini, Antonella Amendola - <i>Iniziative dell'APAT in corso su indicatori biologici per il suolo</i>	18
Cristina Menta - La qualità biologica dei suoli attraverso l'uso dei microartropodi	22
Anna Benedetti - Attività della Società Italiana di Scienza del Suolo (SISS) su biologia e microbiologia del suolo	27
Aldo Zullini - Valutazione della qualità biologica dei suoli mediante i nematodi	32
Pina Nappi - Presentazione Guida Tecnica CTN_TES "Guida Tecnica su metodi di analisi per il suolo e i siti contaminati utilizzo di indicatori ecotossicologici e biologici"	36
Mariuccia Cirio - Tre anni di esperienze di applicazione del QBS in Piemonte	40
Gaia Pigino, Massimo Migliorini, Fabio Bernini - Gli acari oribatei come indicatori della qualità biologica dei suoli	49
Patrizia Casarini - Esperienze di biomonitoraggio del suolo in Lombardia	56
Paola Ferrazzi - Impiego di un microcosmo in test di biomonitoraggio ambientale	61
Bona Griselli - Importanza dei test ecotossicologici nell'ambito dell'analisi del rischio ecologico (ERA)	72
Maurizio Battezzato, Simona Caddeo, Patrizia Cometto, Enrico Gastaldi, Lorenzo Giordano - Applicazione di test di fitotossicità ai suoli della Valle Bormida	76
Pietro Brandmayr, Roberto Pizzolotto, Antonio Mazzei, Maria Sapia - I coleotteri geofagi nella valutazione del pregio naturalistico del territorio	83
Anna Maria D'Agostino, Daniele Marangon, Agostino Profeta I saggi di mutagenesi nella valutazione della qualità dei suoli	87

CONOSCENZA E PROTEZIONE DEL SUOLO: SALUTO INTRODUTTIVO

Vincenzo Cocco

Direttore Generale Arpa Piemonte

Negli ultimi anni vi è stata una acquisizione di consapevolezza dei diversi organi europei sulla importanza della tematica “protezione del suolo” e sulla necessità di predisporre a livello comunitario una serie di linee di indirizzo e di norme su una matrice per troppo tempo trascurata.

Il primo documento di svolta nella politica europea sul suolo è sicuramente il Sesto programma di azione per l’ambiente della Comunità europea “Ambiente 2010: il nostro futuro, la nostra scelta”, approvato nel 2001.

Uno dei temi di base di tale programma è quello della “natura e biodiversità – una risorsa unica da salvaguardare”, ed è nell’ambito di questo tema che si identifica come obiettivo fondamentale quello di “proteggere il suolo dall’erosione e dall’inquinamento”. La prima concretizzazione dei contenuti riguardanti il suolo del 6° programma di azione, è la Comunicazione COM (2002) 179 del 16 aprile 2002, dal titolo “Verso una strategia tematica per la protezione del suolo”.

Questo documento ha segnato un punto di svolta dell’attenzione dell’Unione Europea verso la protezione del suolo. In esso si affrontano le principali problematiche dei suoli europei e si tracciano le linee strategiche per l’elaborazione di una politica di salvaguardia del suolo nei prossimi anni.

Il documento della Commissione, dopo avere esaminato le attuali politiche che direttamente o indirettamente riguardano il suolo, torna ad affrontare in dettaglio il problema dei sistemi esistenti per la raccolta dei dati sul suolo, evidenziandone la carenza e la difficoltà di comparazione dei dati. Addirittura un ambito specifico di intervento è individuato nel “monitoraggio delle minacce per il suolo”, in merito al quale la Comunicazione afferma che “per la protezione a lungo termine del suolo sarà necessario assicurare lo sviluppo di una base di informazioni, sistemi di monitoraggio e indicatori più completi per determinare le condizioni prevalenti del suolo e valutare l’impatto delle diverse politiche e pratiche”.

Queste carenze conoscitive e questa necessità di definire regole precise sulla acquisizione ed elaborazione dei dati ambientali sono ben note all’Arpa Piemonte che non solo è leader, fin dal 1998, del CTN tematico (prima Suolo e Siti Contaminati e ora Territorio e Suolo), ma che ha già cercato di tradurre in aspetti concreti le indicazioni fornite dal CTN, avviando una rete regionale di monitoraggio ambientale dei suoli che considera tanto gli aspetti chimici (metalli pesanti, IPA, PCB e diossine) quanto quelli biologici (QBS – indice di qualità biologica del suolo).

Per questo la nostra Arpa è doppiamente felice di contribuire, assieme all’Apat, alla organizzazione di questo convegno, come occasione per presentare uno dei numerosi prodotti del CTN TES e per evidenziare il lavoro già fatto nell’ambito della progressiva costruzione di una rete di monitoraggio che consideri anche gli aspetti biologici dei suoli piemontesi.

Questo convegno nazionale si propone di fare il punto sull’utilizzo di indicatori biologici per valutare la qualità dei suoli, sia in riferimento alle sempre più impellenti necessità di avviare una rete di monitoraggio nazionale sul suolo, sia come possibile contributo alla gestione dei siti contaminati, con particolare riferimento all’analisi di rischio ecologica.

Il suolo, infatti, nonostante il suo ruolo fondamentale dal punto di vista ambientale, non è stato oggetto di ricerche adeguate per quanto riguarda la sua popolazione biologica. Il biota edafico è ancora poco noto, a dispetto della sua importanza critica. Benché gli studi sulla biodiversità a livello mondiale abbiano evidenziato la carenza di studi sugli organismi edafici, esistono pochi ricercatori con esperienza sulla tassonomia o l'ecologia del suolo.

Negli ultimi anni l'attenzione del mondo scientifico per questa tipologia di problemi è sicuramente aumentata, e in tale ambito si inquadra anche l'attività che il Centro Tematico Nazionale "Suolo e Siti Contaminati", attualmente CTN "Territorio e Suolo", ha svolto in questi anni, dedicando una particolare attenzione agli indicatori biologici ed ecotossicologici. Il lavoro del CTN TES ha trovato concretizzazione in una proposta di Guida Tecnica che riporta le metodiche di analisi biologiche ed ecotossicologiche ritenute più valide per il suolo e i siti contaminati in base sia alle attività sperimentali condotte dal gruppo di lavoro sia alle verifiche effettuate da altri ricercatori.

Questa Guida Tecnica si rivolge specificatamente a coloro che hanno il compito di valutare lo stato di salute del suolo e si propone di fornire gli elementi conoscitivi indispensabili per definire e rendere organica la fase di campionamento (anche alla luce della necessità di armonizzare le attività di monitoraggio nazionali con quelle europee) e le varie fasi che compongono le metodologie analizzate.

La sessione mattutina del Convegno è dedicata agli aspetti generali della qualità biologica del suolo, con descrizione delle attività promosse nel settore dall'Apat e dal sistema agenziale e con relazioni introduttive tenute da rappresentanti del mondo accademico e scientifico. Verranno presentate le metodologie ufficiali del Ministero per le Politiche Agricole e Forestali per le analisi microbiologiche e biochimiche del suolo. In conclusione di mattinata verrà presentata anche la proposta di Guida Tecnica sui metodi di analisi per l'utilizzo di indicatori biologici ed ecotossicologici per il suolo e i siti contaminati, predisposta dal CTN TES.

La sessione pomeridiana sarà invece dedicata alla presentazione di esperienze applicative sull'utilizzo degli indicatori biologici per il suolo, con una attenzione sia al lavoro svolto dalle Università, sia al lavoro applicativo sviluppato dalle Arpa.

QUALITÀ BIOLOGICA DEL SUOLO: SALUTO INTRODUTTIVO

Marisa Amadei

Dipartimento Difesa della Natura APAT

Tradizionalmente l'analisi dei suoli è sempre avvenuta concentrando i monitoraggi dei parametri chimici e fisici, tuttavia l'utilizzo degli indicatori biologici per il suolo ha avuto negli ultimi tempi uno sviluppo importante, specialmente da parte delle Agenzie Regionali per la Protezione dell'Ambiente, che hanno attivato reti di monitoraggio e intrapreso attività di raccolta dati più o meno coordinate.

Esistono ancora molte lacune riguardo alla conoscenza dei suoli e soprattutto nei confronti di metodologie di analisi e monitoraggio della qualità basate su parametri biologici. Altrettanto numerose sono le incertezze nei confronti dell'applicazione delle esperienze degli ecologi per attribuire parametri di riferimento per definire la qualità dei suoli e per monitorarne l'evoluzione a partire dai casi di studio riguardanti i siti contaminati.

La grande mancanza di un coordinamento generale riguardo alle modalità di svolgimento delle attività si è fatta subito sentire, e ha fatto sì che in APAT si sviluppasse la volontà di mettere a confronto tutte le esperienze fatte sul tema.

Il CTN TES da tempo ha sviluppato iniziative e metodologie finalizzate allo studio dei suoli anche mediante indicatori biologici, anche se ha concentrato gli sforzi prevalentemente in aree a media-elevata antropizzazione.

In particolare, riguardo all'indicatore di qualità biologica dei suoli QBS-ar adottato nella rete di monitoraggio attivata da Arpa Piemonte si riscontra che, non esistendo procedure standardizzate, i diversi Enti che utilizzano questo indicatore (ARPA, Università) hanno elaborato a livello interno i criteri per il campionamento che, come noto, è un passo fondamentale nelle analisi in cui è coinvolta una matrice fortemente disomogenea come il suolo.

Il Dipartimento Difesa della Natura dell'APAT ha ravvisato la necessità di testare le metodologie già in uso anche in aree a media-elevata naturalità e a tal fine è stata avviata una Convenzione tra APAT e Università della Calabria attraverso la quale ci si propone di mettere a confronto esperienze, metodologie e risposte fornite da alcuni degli indicatori fino ad ora utilizzati per la valutazione della qualità del suolo.

Il confronto tra le metodiche e gli indicatori avrà lo scopo di evidenziare eventuali differenze o corrispondenze tra i risultati ottenibili, nonché segnalare l'eventualità di poter ottimizzare lo svolgimento delle analisi ottenendo risultati attendibili ma facendo un minore sforzo di campionamento. Non bisogna sottovalutare infatti che uno dei grandi vantaggi dell'utilizzo del biomonitoraggio è la grande economia e velocità delle analisi, fattore non di poco conto, in quanto permette di effettuare indagini a più ampia scala.

Obiettivo di APAT è lo sviluppo di metodologie affidabili per l'applicazione del biomonitoraggio e quindi la promozione dell'utilizzo anche dei bioindicatori nelle attività di monitoraggio della qualità del suolo che vengono svolte dalle Agenzie Regionali per la Protezione dell'Ambiente.

ATTIVITA' IN CORSO DA PARTE DEL CTN TES PER APPROFONDIRE LA CONOSCENZA DEI SUOLI

Renzo Barberis, Antonio Pugliese***

- * *Agenzia Regionale per la Protezione Ambientale (ARPA) del Piemonte Area Ricerca e Studi*
- ** *Agenzia per la Protezione dell'Ambiente e per i Servizi Tecnici (APAT)*

Il progetto Centri Tematici Nazionali (CTN) ha avuto inizio nell'ottobre del 1998, nell'ambito delle attività di realizzazione e gestione del Sistema nazionale conoscitivo e dei controlli ambientali (SINANet), con l'avvio e la realizzazione di 6 CTN prioritari, da sviluppare in collaborazione con le Agenzie regionali.

Il criterio di riferimento per l'individuazione dei primi 6 CTN è stato quello di garantire la corrispondenza con gli *European Topic Centres* (ETC), le strutture che giocano nella rete europea EIONet un ruolo omologo a quello dei CTN nella rete SINANet.

La prosecuzione del progetto nel triennio 2002-2004, conseguente all'approvazione da parte della Conferenza Stato-Regioni del Piano di sviluppo SINANet, ha visto una rivisitazione delle compagini al fine di permettere la partecipazione diretta a tutte le ARPA. Ciò ha comportato per tutti i CTN una modifica delle compagini e, limitatamente ad alcuni CTN, una parziale rivisitazione della denominazione e dei temi di competenza.

La situazione attuale vede operativi i seguenti CTN:

- Atmosfera, Clima ed Emissioni in aria (ACE)
- Agenti Fisici (AGF)
- Acque Interne e Marino costiere (AIM)
- Natura e Biodiversità (NEB), già Conservazione della Nature (CON)
- Rifiuti e Flussi di Materiali (RFM), già Rifiuti (RIF)
- Territorio e Suolo (TES), già Suolo e Siti Contaminati (SSC)

I Centri Tematici Nazionali, ciascuno nell'ambito delle aree tematiche di competenza, rappresentano per l'APAT il necessario supporto per l'attuazione dei compiti che la legge istitutiva le affida in materia di raccolta e gestione dei dati e delle informazioni ambientali e di controllo. In particolare, il supporto riguarda quanto attiene alla definizione di regole per rendere tali attività omogenee su tutto il territorio nazionale e disponibili sulla rete SINANet, in linea con lo sviluppo di attività analoghe nel contesto comunitario.

In analogia al modello europeo, i CTN sono attuati da compagini di soggetti, nell'ambito delle quali, un Gruppo *leader* è preposto al coordinamento del progetto. Le compagini sono costituite da ARPA/APPA, con l'integrazione di altri soggetti, le Istituzioni Principali di Riferimento (IPR), che hanno competenze specialistiche in materia di azione conoscitiva per i vari temi ambientali. Per ogni CTN, l'ANPA (ora APAT) ha nominato un responsabile di progetto.

Il CTN SSC e il CTN TES

I temi di competenza del CTN SSC sono rimasti anche al CTN TES, con l'aggiunta di un nuovo tema sull'uso del territorio. I temi attuali sono dunque:

- Qualità dei Suoli
- Degradazione fisica e biologica del suolo
- Contaminazione dei suoli da fonti diffuse
- Contaminazione puntuale del suolo e siti contaminati
- Uso del territorio

La composizione dei due CTN è quella riportata nella tabella sottostante.

CTN SSC	CTN TES
Arpa Leader: ARPA Piemonte Co-leader: ARPA Liguria Partecipanti: ARPA Emilia Romagna ARPA Toscana ARPA Veneto ARPA Campania	Arpa Gruppo Leader: ARPA Piemonte (leader) ARPA Campania ARPA Friuli Venezia Giulia ARPA Marche Partecipanti: ARPA Emilia Romagna ARPA Liguria ARPA Veneto ARPA Calabria ARPA Sardegna
IPR <ul style="list-style-type: none"> - Istituto di Chimica del Terreno del CNR di Pisa; - Istituto Sperimentale per la Nutrizione delle Piante di Roma; - Istituto Sperimentale per lo Studio e la Difesa del Suolo di Firenze; - European Soil Bureau - Joint Research Centre- ISPRA -VA; - Dipartimento di Chimica Analitica dell'Università di Torino; - Dipartimento di Protezione e Valorizzazione Agroalimentare della Facoltà di Agraria dell'Università di Bologna, sede distaccata di Reggio Emilia; - Ente di Sviluppo Agricolo della Regione Lombardia 	IPR <ul style="list-style-type: none"> - Dipartimento di Chimica Analitica dell'Università di Torino; - Istituto Sperimentale per lo Studio e la Difesa del Suolo di Firenze; - Istituto Sperimentale per la Nutrizione delle Piante di Roma; - DIPROVAL Università di Bologna; - Dipartimento di Matematica e Informatica dell'Università di Salerno; - Dipartimento Scienze Geologiche, Ambientali e Marine dell'Un. di Trieste;
Responsabile CTN Leader Renzo Barberis	Responsabile CTN Leader Renzo Barberis
Responsabile Apat Antonio Pugliese	Responsabile Apat Antonio Pugliese (Giuseppe Marella dall'aprile 2004)

Per un maggiore dettaglio sulle finalità e sulle modalità operative dei CTN, si possono consultare i siti internet dell'Apat (www.apat.it e www.sinanet.apat.it) e quello dell'Arpa Piemonte, nella sezione dedicata al CTN TES (<http://www.arpa.piemonte.it/intranet/CTNTES/index.htm>).

PRINCIPALI PRODOTTI DEL CTN SSC

Contributo a prodotti comuni a tutti i CTN

Le informazioni elaborate dai CTN nelle attività relative al censimento delle fonti di dati ambientali, alla rassegna ed analisi della normativa, alla individuazione degli indicatori, costituiscono altrettanti insiemi di metadati che sono stati organizzati in cataloghi informatizzati o "meta databases".

Sono stati prodotti e, successivamente, aggiornati tre meta database:

- 1) **FONTI**, il catalogo italiano delle fonti di dati ambientali;
- 2) Il database **ODN** (Osservatorio della Domanda d'informazione proveniente dalla Normativa) ;
- 3) **DB_Indicatori**, il catalogo degli indicatori/indici definiti per SINAnet.

I primi risultati ottenuti in tema di osservatorio normativo, catalogo degli indicatori, catalogo delle fonti di dati e casi studio sono stati presentati nel rapporto **"Realizzazione del Sistema conoscitivo Italiano in campo ambientale – Primo stato di avanzamento dei progetti CTN"**, presentato in occasione della terza Conferenza delle Agenzie Ambientali, Napoli, 4-5 ottobre 1999.

Gli elementi metodologici e conoscitivi acquisiti dai CTN durante il primo periodo di attività hanno consentito la redazione del libro bianco **"Il monitoraggio dello stato dell'ambiente in Italia. Esigenze e disponibilità di elementi conoscitivi"**. Un primo documento sul livello di consistenza delle esigenze, delle disponibilità e delle carenze informative, principalmente sullo stato dell'ambiente nel nostro Paese. Il libro è stato presentato in occasione della Quarta Conferenza Nazionale delle Agenzie "Venezia 2000".

L'Annuario dei dati ambientali rappresenta la prima occasione sistematica e strutturata di presentare le conoscenze acquisite sulle varie tematiche. Il documento è organizzato per grandi aree tematiche (Agenti fisici, Atmosfera, Biosfera, Geosfera, Idrosfera, Rifiuti, ecc.). I *temi* che costituiscono ciascuna area tematica sono descritti da indicatori organizzati in schede. Ogni scheda riporta una breve descrizione del o degli indicatori cui si riferisce, seguita dai dati presentati in prevalenza sotto forma di tabelle. A completamento della scheda sono riportate le fonti dei dati. Il documento, presentato a Bologna in occasione della Quinta Conferenza nazionale delle Agenzie (dicembre 2001) è in fase di stampa ma è già consultabile sul sito internet www.sinanet.anpa.it

Prodotti del CTN_SSC pubblicati

- **"Sviluppo di indicatori per il suolo ed i siti contaminati"** RTI CTN_SSC 1/2000
Il lavoro di ricerca degli indicatori è stato riassunto in un apposito rapporto, dove è riportato l'elenco completo degli indicatori individuati per definire la qualità del suolo in tutte le sue componenti, chimica, fisica e biologica, nonché delle pressioni, diffuse o puntuali, che su di esso sono esercitate. Tale elenco è stato suddiviso operativamente nei temi qualità del suolo, degradazione fisica e biologica, inquinamento da fonti diffuse e siti contaminati, e in esso sono stati individuati

quegli indicatori giudicati prioritari per rispondere alle richieste della Comunità Europea, dell'EEA e alle richieste specifiche individuate a livello nazionale. Una parte consistente degli indicatori giudicati significativi è stata rappresentata con mappe tematiche.

- **“Censimento delle reti di monitoraggio sul suolo in Europa”** RTI CTN_SSC 2/2000 – Il primo lavoro svolto dal CTN in merito alle reti di monitoraggio è stato il censimento delle reti di monitoraggio esistenti all'estero, con particolare riferimento all'Europa. Il risultato è riportato in un documento che analizza la diffusione e le metodologie di attuazione delle reti di monitoraggio internazionali e nazionali per il suolo, allo scopo di fornire una dettagliata ed esaustiva rassegna dello stato dell'arte in tale settore. Questo censimento è stato la base di partenza per i lavori di impostazione e successiva definizione degli elementi progettuali di una rete nazionale di monitoraggio del suolo. La presenza di una rete nazionale di monitoraggio permetterebbe infatti di ricavare con continuità e periodicità i dati necessari al monitoraggio dei principali parametri di qualità del suolo e quindi la misurazione e/o previsione dei principali fenomeni di degrado.
- **“Indicatori e indici ecotossicologici e biologici applicati al suolo”** RTI CTN_SSC 3/2000 – Il CTN ha sviluppato fin dal primo anno un'attività di studio sui possibili indicatori biologici ed ecotossicologici ed ha prodotto un lavoro che presenta lo stato dell'arte della conoscenza della matrice “suolo” in relazione a tali aspetti, spesso trascurati e poco conosciuti. Obiettivo del rapporto è fare il punto sulla selezione di possibili indicatori biologici ed ecotossicologici per il suolo ed i siti contaminati. Viene riportato un conciso, ma esaustivo, excursus sugli strumenti ecotossicologici e biologici per lo studio dei suoli, con particolare riferimento ad alcune metodologie per la valutazione della tossicità del suolo mediante organismi test allo scopo di effettuare prove di tossicità acuta e cronica sia su elutriati, sia su matrice solida.
- **“Raccolta 2000 di metodi di analisi del suolo”** Pubblicato su CD – L'entrata in vigore della normativa sulle bonifiche, in particolare del D.M. 471/99, ha fatto emergere il problema dei metodi di analisi sui suoli contaminati. Il CTN ha perciò prodotto una raccolta guidata dei metodi di analisi dei suoli contaminati, con commenti e valutazioni critiche. Partendo dalla legislazione sulle bonifiche, si riportano i limiti previsti dalla legislazione nazionale ed i metodi di analisi disponibili sia come metodi ufficiali, che riguardano pochi parametri, sia come metodi normalmente utilizzati per i suoli contaminati, anche se nati per l'analisi di rifiuti, sia ancora come metodi internazionali, soprattutto U.S.EPA, che hanno un'ampia diffusione in Italia. I commenti guidano alla scelta del metodo più opportuno e pongono a confronto i limiti di rilevabilità con i limiti di legge. La pubblicazione contiene inoltre una ricca appendice legislativa e altre informazioni di supporto.
- **“Modellistica e qualità ambientale dei suoli”** RTI CTN_SSC 1/2001 - Presentato in un apposito Seminario il 16 ottobre 2001 a Bologna – E' una pubblicazione contenente la rassegna dei principali modelli utilizzati per il suolo ed i siti contaminati, con alcuni contributi specifici di soggetti esterni al CTN che hanno anche svolto la funzione di referee. E' stata posta una particolare attenzione a quei modelli, già validati a livello nazionale, che possono permettere la costruzione di indicatori ed indici ritenuti prioritari per il suolo ed i siti contaminati.

- **“Elementi di progettazione della rete nazionale di monitoraggio del suolo a fini ambientali”** RTI CTN_SSC 2/2001 – Presentato a Roma, il 6 novembre 2001, nell’ambito di un apposito Seminario. La mancanza di una rete di monitoraggio è stata giudicata un punto di forte criticità, per cui il CTN_SSC ha investito una parte non trascurabile delle proprie risorse per la definizione degli elementi per la progettazione di una rete nazionale di monitoraggio del suolo. Tale lavoro è stato realizzato in stretto collegamento con l’Agenzia per l’Ambiente Europea (EEA) e con gli European Topic Centre (ETC) di competenza; proprio l’EEA ha presentato, alla fine del 1999, un documento di indirizzo per la progettazione di una rete di monitoraggio dei suoli a livello europeo (Proposal for an European Soil Monitoring and Assessment Framework). Il lavoro di definizione degli elementi progettuali per la rete di monitoraggio è raccolto in un documento dove sono stati approfonditi alcuni aspetti ritenuti fondamentali per la progettazione di una rete di monitoraggio dei suoli a scala nazionale, quali i criteri di scelta, numero e strutturazione dei siti da monitorare, i principali parametri e indicatori da analizzare, la frequenza delle campagne di monitoraggio, i criteri di spazializzazione dei dati, le modalità di gestione della rete.
- **“Criteri per la predisposizione dell’anagrafe dei siti da bonificare ex D.M. Ambiente n. 471 del 25.10.1999 – Contenuti e struttura dati”** - E’ un documento presentato a Roma il 6 novembre 2001, che contiene i risultati derivanti dal tavolo di consultazione ANPA – ARPA – Regioni in attuazione di quanto previsto dal DM 471/99; il CTN_SSC ha predisposto il documento iniziale da sottoporre al tavolo ed ha supportato l’ANPA nella progressiva integrazione del documento stesso con le osservazioni emerse nel corso del lavoro. E’ in corso di completamento un software applicativo, predisposto dal CTN_SSC per conto ANPA, che verrà messo a disposizione delle Regioni che ne faranno richiesta.
- **“Atlante degli indicatori del suolo”** RTI CTN_SSC 3/2001 – Distribuito nell’ambito della 5ª Conferenza delle Agenzie di Bologna (dicembre 2001) – Per verificare l’efficacia e la rappresentatività degli indicatori individuati, è necessario procedere al loro popolamento e definire le modalità di rappresentazione più efficaci. Per questo motivo è stato creato l’Atlante, che contiene le rappresentazioni, ed i relativi dati di riferimento, degli indicatori prioritari individuati dal CTN. In genere, vengono fornite delle rappresentazioni su scala nazionale, facendo uso di sistemi GIS che permettono di correlare il dato al territorio; in alcuni casi, in carenza di dati nazionali omogenei, le rappresentazioni riguardano porzioni più limitate di territorio, ad esempio una regione. Oltre ai dati, vengono riportate, ove disponibili, le serie storiche sull’andamento di alcuni indicatori. Può essere considerato come la sintesi del lavoro di individuazione e popolamento degli indicatori condotto dal CTN nel triennio.
- **“Proposta di Guida tecnica per i metodi di analisi dei suoli inquinati”** – RTI CTN_SSC 3/2002 - Si tratta di un aggiornamento ed ampliamento della raccolta di metodi già pubblicata su CD, con un aggiornamento della normativa e dei metodi, con l’integrazione di una sezione concernente il trattamento statistico dei dati e la buona prassi di laboratorio e, soprattutto, con un maggiore approfondimento sulla applicabilità delle singole metodiche analitiche anche in funzione dei limiti di rilevabilità delle metodiche stesse rapportati ai limiti tabellari legislativi.
- **“Proposta di linea guida per la selezione e l’utilizzo di indicatori ecotossicologici per il suolo ed i siti inquinati”** - RTI CTN_SSC 2/2002 - Dopo aver individuato i possibili indicatori biologici ed ecotossicologici, è stato ritenuto

necessario un lavoro di verifica delle metodologie indirizzato ad una proposta di guida tecnica che permetta un approccio uniforme al problema a livello nazionale. E' stata perciò predisposta una pubblicazione che riporta tutto il lavoro di individuazione e selezione, anche con attività sperimentali, di indicatori biologici ed ecotossicologici per il suolo ed i siti contaminati. Le metodologie giudicate di maggior interesse per la costruzione degli indicatori, sono riportate nel dettaglio fornendo, ove possibile, anche degli elementi di valutazione dei risultati, sulla base di alcune attività sperimentali condotte parallelamente al lavoro del CTN soprattutto dall'ARPA Piemonte e dall'ARPAT Toscana.

- **“Elementi di progettazione della rete nazionale di monitoraggio del suolo a fini ambientali – Linee Guida per un manuale di organizzazione e gestione della rete” - RTI CTN_SSC 1/2002** - – Sulla base degli elementi progettuali di cui al punto precedente, è stato predisposto un manuale per il monitoraggio, che raccoglie il frutto di numerose task previste nel 2001; è un primo manuale di riferimento per la creazione della rete nazionale di monitoraggio dei suoli. Il manuale contiene un approfondimento, con descrizione degli aspetti operativi e pratici, dei singoli punti già trattati, come impostazione generale, nel documento sugli elementi di progettazione. Viene inoltre descritto con maggior dettaglio il problema dei siti specialistici di monitoraggio che si vanno ad aggiungere, per aree a particolare sensibilità ambientale, ai siti principali che costituiscono la rete nazionale.

IL LAVORO DEL CTN_TES

I temi del CTN_TES possono essere letti nel seguente modo:

- **Qualità del suolo** – riguarda la rappresentazione del suolo attraverso le sue caratteristiche intrinseche, che meglio lo caratterizzano come matrice naturale, le numerose e ben note funzioni.
- **Degradazione fisica e biologica dei suoli, inclusa la desertificazione** – considera gli aspetti di degradazione della matrice suolo che, soprattutto nell'ultimo secolo, hanno portato o rischiano di portare ad una perdita di parte del suolo o delle sue funzionalità a causa del verificarsi di fenomeni degradativi o di utilizzo del suolo che possono considerarsi irreversibili, almeno nella scala temporale umana. Ricade pienamente in questo tema il problema della desertificazione, che nel primo ciclo dei CTN era principalmente gestita dal CTN conservazione della natura. Uno dei fenomeni più importanti di degradazione, cioè la perdita di suolo per impermeabilizzazione (*soil sealing*), può essere più correttamente considerato nel tema dell'uso del territorio.
- **Contaminazione dei suoli da fonti diffuse** – considera quegli aspetti qualitativi del suolo che possono essere progressivamente compromessi da un utilizzo dello stesso, soprattutto da parte dell'uomo, con modalità tali da non rispettare i naturali tempi di riequilibrio, vale a dire tali da compromettere la funzione del suolo come filtro biologico.
- **Contaminazione puntuale e siti contaminati** – considera uno dei fenomeni più preoccupanti degli ultimi decenni, vale a dire il moltiplicarsi di situazioni di forte contaminazione di superfici ben definite di suolo da parte di attività antropiche, con necessità di interventi di bonifica che, spesso, non sono in grado di restituire al suolo la sua piena funzionalità. Occorre considerare in questo tema anche le

ripercussioni derivanti dai temi trasversali legati al rischio tecnologico e alla gestione delle sostanze pericolose, anche per dare un maggior connotato previsionale e preventivo agli indici e indicatori utilizzati.

- **Uso del territorio** – considera, analizza e rappresenta i dati relativi al territorio e al suolo, ove e per quanto possibile, secondo la dimensione territoriale dei fenomeni; rientrano in questo tema tutte le problematiche correlate al land cover, con particolare riferimento al progetto Corine Land Cover 2000 (CLC2000), al land use e, per quanto di competenza del suolo, al rischio idrogeologico. Prevede l'analisi della situazione e della evoluzione territoriale anche e soprattutto avvalendosi delle tecniche di *remote sensing*, cioè del telerilevamento, e cerca di rappresentarle soprattutto attraverso l'uso del GIS.

Da questa breve descrizione dei temi, appare chiaro non solo che il campo di interesse del CTN_TES è ben più ampio di quello del CTN_SSC, ma anche che, per certi aspetti, è stato necessario sviluppare un nuovo approccio ai problemi del suolo e alla loro rappresentazione. Accanto ad una visione verticale del problema, che segue il ben noto schema DPSIR, occorre considerare una dimensione orizzontale dell'evolversi delle risorse e dei fenomeni naturali, diversa dai confini amministrativi, quali zone urbane, aree rurali, montagne, coste, ... senza dimenticare le integrazioni con i settori produttivi (driving forces).

In definitiva, la gestione dei dati e delle informazioni ricavate per i diversi temi ambientali di competenza del CTN, dovrebbero trovare tre diverse vie di integrazione:

- *Integrazione basata sullo schema DPSIR* - la più conosciuta e la più applicata, già parzialmente utilizzata dal CTN_SSC. Nell'ambito delle attività del CTN_TES, l'uso degli indicatori DPSIR e l'analisi dei risultati deve portare alla identificazione dei problemi ambientali, dei rischi e dei vantaggi connessi alle modalità di utilizzo delle risorse. Tali risultati devono contribuire alla identificazione delle priorità nella pianificazione territoriale e nell'uso delle risorse, all'analisi dei risultati ottenuti dalle politiche territoriali adottate e alla loro correzione.
- *Integrazione basata sul territorio* - con questa forma di integrazione geografica o territoriale si cerca di dare ai dati e alle informazioni quel contenuto spaziale che è fondamentale per trasformarli in reali strumenti di supporto alle decisioni a livello locale, regionale o nazionale; per ogni specifico ambiente, rurale, costiero, urbano o montano, occorre definire un approccio integrato sulla evoluzione dei problemi ambientali. Per ognuno di questi ambienti deve essere esaminata l'evoluzione dei principali indicatori ambientali in connessione con gli indicatori di sviluppo delle attività umane, quali i trasporti, le infrastrutture, l'uso del territorio, i fattori economici correlati con lo sviluppo delle attività settoriali e con l'uso competitivo del suolo con i suoi effetti sull'ambiente terrestre.
- *Integrazione settoriale* - è un altro livello di aggregazione delle informazioni su settori, produttivi o di servizio, che sono ben individuati a livello di politiche settoriali, come i trasporti, l'agricoltura, l'energia, il turismo, i cambiamenti climatici, la gestione integrata delle acque, la cooperazione internazionale. E' infatti ben noto e strutturalmente riconosciuto dai trattati europei che gli aspetti ambientali vanno incorporati e devono essere attentamente valutati in ogni politica settoriale. Occorre dunque progressivamente essere in grado di valutare le pressioni e gli impatti che derivano dall'applicazione delle singole politiche settoriali, inclusi gli strumenti economici promozionali adottati dalle citate politiche. In altri termini, occorre

progressivamente sviluppare degli strumenti che, avvalendosi degli indicatori e della modellistica ambientale, riescano a fornire delle efficaci previsioni prima dell'adozione di determinate politiche.

Un ulteriore aspetto che merita di essere sottolineato è l'evoluzione legislativa che è in atto a livello europeo; negli ultimi anni vi è infatti stata una acquisizione di consapevolezza dei diversi organi europei sulla importanza della tematica "protezione del suolo" e sulla necessità di predisporre a livello comunitario una serie di linee di indirizzo e di norme su una matrice per troppo tempo trascurata.

Il primo documento di svolta nella politica europea sul suolo è sicuramente il Sesto programma di azione per l'ambiente della Comunità europea "Ambiente 2010: il nostro futuro, la nostra scelta", approvato nel 2001.

Uno dei temi di base di tale programma è quello della "natura e biodiversità – una risorsa unica da salvaguardare", ed è nell'ambito di questo tema che si identifica come obiettivo fondamentale quello di "proteggere il suolo dall'erosione e dall'inquinamento". La prima concretizzazione dei contenuti riguardanti il suolo del 6° programma di azione, è la Comunicazione COM (2002) 179 del 16 aprile 2002, dal titolo "Verso una strategia tematica per la protezione del suolo".

Questo documento ha segnato un punto di svolta dell'attenzione dell'Unione Europea verso la protezione del suolo. In esso si affrontano le principali problematiche dei suoli europei e si tracciano le linee strategiche per l'elaborazione di una politica di salvaguardia del suolo nei prossimi anni.

Questi documenti sono anche la principale traccia seguita dal CTN TES nello sviluppo sia delle attività di supporto all'Apat, sia nella realizzazione del piano operativo del triennio 2002-2004.

I PRINCIPALI RISULTATI DEL CTN TES NEL 2002-2003

Oltre ad aver contribuito a quelle attività di tipo comune a tutti i CTN, già descritte in relazione al CTN_SSC, il CTN TES ha contribuito alla realizzazione delle edizioni 2002 e 2003 dell'**Annuario dei dati ambientali** dell'Apat, per i capitoli Geosfera e Agricoltura.

E' inoltre proseguito il lavoro di pubblicazione di una serie di prodotti principalmente destinati alla rete SINAnet, quali:

- **"Proposta di guida tecnica sui metodi di analisi dei suoli contaminati" APAT – Rapporti Tecnici 37/2003** – Pubblicato su CD e su testo con CD abbinato, è l'ultima versione del documento già predisposto dal CTN_SSC. Il CD è disponibile dal novembre 2003; la pubblicazione sarà disponibile da luglio 2004.
- **"Criteri per la predisposizione dell'Anagrafe dei siti da bonificare ex DM 471/99 – Contenuti informativi** – Si tratta, anche in questo caso, di una evoluzione del lavoro già condotto dal CTN SSC come supporto al tavolo di lavoro Apat-Regioni-Arpa; la revisione accoglie alcune parziali modifiche suggerite dalle Regioni e dalle Arpa, ed è la base utile alla predisposizione dello standard SINAnet relativo all'Anagrafe.
- **"Sistema di gestione dati – Anagrafe dei siti da bonificare – Applicativo e manualistica** – Si tratta di un apposito applicativo che concretizza i contenuti del precedente documento; prodotto dal CTN TES e messo a disposizione dell'Apat,

viene da quest'ultima distribuito alle amministrazioni che ne fanno richiesta. L'applicativo è disponibile da fine aprile 2004.

- **“Elementi di progettazione della rete nazionale di monitoraggio del suolo a fini ambientali – Versione aggiornata sulla base delle indicazioni contenute nella strategia tematica del suolo dell’Unione Europea** – Il documento di indirizzo sull’avvio della rete nazionale di monitoraggio viene ripubblicato in una versione che tiene conto dei risultati del gruppo “Monitoring”, previsto nell’ambito della nuova Soil European Thematic Strategy; il lavoro sarà disponibile nell’ambito della rete SINAnet da fine maggio 2004.
- **“Proposta di linea guida sui metodi di campionamento dei suoli contaminati” – TES-T-LGU-03-02** – E’ il naturale complemento al documento sull’analisi dei suoli. La proposta di guida tecnica sui metodi di campionamento dei suoli contaminati è una raccolta guidata, con commenti e valutazioni critiche. Partendo dalla legislazione sulle bonifiche, ed in particolare dal D.M. 471/99, si riportano le indicazioni fornite dalla legislazione nazionale sulle modalità di campionamento, ponendole a confronto con la principale normativa tecnica internazionale e con alcuni protocolli già elaborati su siti di interesse nazionale ovvero proposti da alcune Arpa. E’ disponibile nell’ambito del circuito SINAnet dal mese di maggio 2004.
- **“Proposta di Guida Tecnica sui metodi di analisi per l’utilizzo di indicatori biologici ed ecotossicologici per il suolo e i siti contaminati” RTI CTN_TES 1/2004** – La proposta di Guida Tecnica che riporta le metodiche di analisi biologiche ed ecotossicologiche ritenute più valide per il suolo e i siti contaminati in base sia alle attività sperimentali condotte dal gruppo di lavoro sia alle verifiche effettuate da altri ricercatori. Questa Guida Tecnica si rivolge specificatamente a coloro che hanno il compito di valutare lo stato di salute del suolo e si propone di fornire gli elementi conoscitivi indispensabili per definire e rendere organica la fase di campionamento (anche alla luce della necessità di armonizzare le attività di monitoraggio nazionali con quelle europee) e le varie fasi che compongono le metodologie analizzate. E’ stata presentata in un apposito Convegno nazionale a Torino il 13 maggio 2004.
- **Metodologia per la determinazione del Fondo Naturale** – E’ un ulteriore completamento della manualistica che riguarda la gestione dei siti contaminati; il documento ha lo scopo di stabilire il *modus operandi* per la definizione del valore di fondo naturale ai fini del D.M. 471/99 che prevede la possibilità di fissare limiti di bonifica diversi da quelli riportati in allegato, qualora i valori di fondo naturale risultino superiori. E’ disponibile in ambito rete Sinanet dalla fine di maggio 2004.

I RISULTATI DEL CTN TES PREVISTI PER IL 2004

I principali prodotti del 2004, oltre ai soliti prodotti comuni a tutti i CTN, sono:

- Manuale per la costruzione degli indici e degli indicatori (TES-T-MAN-04-01) – Aggiornamento di quanto già fatto nel 2003, tenendo conto della necessaria opera di revisione degli indicatori riferiti alle tematiche di competenza; conterrà le schede descrittive di tutti gli indicatori individuati.

- Manuale di monitoraggio del suolo – conterrà le indicazioni per l'avvio, in Italia, della realizzazione della rete di monitoraggio prevista a livello europeo (**TES-T-MAN-04-02**)
- Guida tecnica sui metodi di campionamento e analisi dei suoli contaminati (**TES-T-GTE-04-01**) – è la proposta definitiva di un documento unitario che raccoglie il lavoro fatto, in parte già pubblicato, negli ultimi anni sui metodi di campionamento e di analisi.
- Linee guida per definire la qualità del suolo utilizzando indicatori biologici (**TES-T-LGU-04-01**) – anche in questo caso il prodotto è un aggiornamento dei documenti già realizzati nel 2003.
- Linee guida per la valutazione comparata del rischio (**TES-T-LGU-04-02**) – contiene la proposta APAT di metodologia nazionale di valutazione comparata del rischio per i siti inseriti nelle Anagrafi regionali.
- Dossier sullo stato dei suoli in Italia (**TES-T-DOS-04-01**) – E' un documento descrittivo dello stato delle conoscenze sui suoli in Italia, considerato la sintesi del lavoro svolto dal CTN.
- Dossier sull'Atlante degli indicatori del suolo (**TES-T-DOS-04-02**) – contiene l'aggiornamento dell'Atlante degli indicatori sul suolo.
- Dossier sullo stato di qualità delle coste italiane – Predisposto in accordo con i CTN AIM e NEB, contiene la descrizione della qualità dell'area costiera attraverso specifici indicatori e indici.
- Dossier sullo stato di qualità delle aree protette (zone umide) – Predisposto in accordo con i CTN AIM e NEB, contiene la descrizione della qualità delle aree protette, con particolare riferimento alle zone umide, attraverso specifici indicatori e indici.
- Linee Guida sul telerilevamento – Predisposizione di linee guida sull'uso del telerilevamento per gli indicatori del suolo (**TES-T-LGU-04-03**).

Tra questi prodotti, preme sottolineare l'importanza del Dossier sullo stato del suolo in Italia, che uscirà come pubblicazione congiunta dell'Apat, CTN TES e dell'Osservatorio Nazionale Pedologico e per la Qualità del Suolo Agricolo e Forestale istituito presso il MIPAF (ONP).

La pubblicazione congiunta fornirà una fotografia della diversità dei suoli italiani e dello stato ambientale dei suoli stessi, basandosi sugli indicatori costruibili con le informazioni attualmente disponibili ancora piuttosto incomplete e frammentarie. Il rapporto esaminerà le principali funzioni del suolo e considererà, in pieno accordo con quanto avvenuto a livello europeo, i più importanti problemi che possono compromettere tali funzioni. Per ogni problema verranno esaminate le determinanti e le pressioni che lo causano, l'estensione, gli impatti causati sulle altre matrici ambientali, le possibili misure gestionali e politiche utili per prevenire e per combattere il problema, avendo altresì cura di evidenziare le carenze conoscitive che impediscono di avere una conoscenza completa e dinamica di quanto sta accadendo.

Un apposito capitolo sarà dedicato al problema della rete di monitoraggio dei suoli a fini ambientali, fortemente voluta a livello europeo, con delle precise indicazioni di



come il problema possa essere affrontato a livello nazionale mediante il coinvolgimento delle strutture regionali anche grazie alle linee guida già predisposte dall'APAT attraverso il CTN TES.

La pubblicazione conterrà inoltre una ricca appendice ove sono riportati tutti gli indicatori individuati in questi anni dal CTN TES; ogni indicatore è descritto attraverso una apposita scheda, comprensiva di linee guida per l'implementazione e di esempi di costruzione a livello nazionale o regionale.

INIZIATIVE IN CORSO DELL'APAT SUGLI INDICATORI BIOLOGICI DEL SUOLO

Luciano Onori, Carmine Siniscalco, Carlo Jacomini, Antonella Amendola

APAT, Dipartimento Difesa della Natura

L'Agenzia per la Protezione dell'Ambiente e per i Servizi Tecnici (APAT) sta tentando di completare un percorso cominciato tempo fa, cercando di colmare alcune lacune del processo conoscitivo su una delle matrici ambientali più complesse: il suolo.

Se, infatti, "la valutazione della qualità del suolo è l'indicatore principale della gestione sostenibile del territorio" (Karlen *et al.*, 1997), criterio comune per garantire la sostenibilità a lungo termine degli ecosistemi è il mantenimento o miglioramento della qualità del suolo (Schoenholtz *et al.*, 2000).

Molti autori, quindi, concordano sulla necessità di utilizzare gli indicatori biologici basandosi su una buona conoscenza dell'ecosistema. Questa richiesta è particolarmente importante per l'ambiente edafico, perché i fattori che regolano il funzionamento dell'ecosistema sono influenzati da effetti indiretti, interazioni croniche, reazioni a catena cumulative e complesse reti d'interazione. Pertanto, un approccio olistico è un pre-requisito indispensabile per un'indicazione affidabile dello stato dell'ambiente, e nessun metodo è sufficiente a spiegare ogni problema.

Sulla qualità del suolo, sulle modalità di rappresentazione e le finalità da raggiungere, però, molto si è discusso, anche nel nostro Paese. Nel 1999, l'allora Agenzia Nazionale per la Protezione dell'Ambiente (ANPA), oggi APAT dopo il "matrimonio" con il Dipartimento dei Servizi Tecnici Nazionali, avviava un percorso per lo sviluppo di indicatori ed indici applicati al suolo, attraverso il Centro Tematico Nazionale "Suolo e Siti Contaminati".

Il 29 marzo del 2000, la Società Italiana di Scienze del Suolo organizzava a Roma un convegno sugli "Indicatori di Qualità del Suolo", dove emergeva con evidenza la necessità di aumentare le conoscenze sulla gestione dei suoli e la pianificazione territoriale, legate ad una corretta valutazione della qualità, sensibilità e vulnerabilità, oltre che delle attitudini, dei diversi tipi di suolo presenti in Italia. Si evidenziava, inoltre, una mancanza di attenzione ai parametri biologici che, a parte la sostanza organica e alcuni indici microbiologici e vegetazionali, risultavano essere assenti in indagini a scala nazionale.

La conoscenza della qualità del suolo era visibilmente incompleta, mancando cioè proprio di quegli indicatori biologici ed ecotossicologici di cui si sentiva la necessità, in particolare dopo l'uscita del D.M. Ambiente 471/99, recante criteri, procedure e modalità per la messa in sicurezza, la bonifica e il ripristino ambientale dei siti inquinati.

A seguito di una prima attenta analisi della letteratura specifica e dal confronto col mondo della ricerca, il Sistema agenziale produceva alcune pubblicazioni interne

(ANPA, 2000; APAT, 2002) e partecipava alle iniziative e agli eventi scientifici e informativi sull'argomento a livello nazionale ed internazionale¹.

Proprio per merito di questo processo partecipativo, che attualmente raccoglie l'attenzione e l'attività di numerose Agenzie regionali di protezione dell'ambiente e di Centri di ricerca su tutto il territorio nazionale (vedi tabella 1), nel settembre 2003 il Servizio Parchi, Ecosistemi e Biodiversità (NAT-BIO) dell'APAT organizzava una prima consultazione nazionale sull'indice QBS-ar (presentato dal prof. Parisi nel 2001), durante la quale emergeva come, solo per questo metodo, siano quasi cento le iniziative avviate in tutta Italia.

Nell'ambito del Progetto Interagenziale "Aree Naturali Protette e Conservazione della Diversità Ambientale", promosso dal suddetto Servizio NAT-BIO, da quest'anno è attiva un'Unità di Progetto denominata "*Biomonitoraggio del suolo*", cui molti dei presenti al Convegno di oggi hanno già aderito. Si tratta del primo tentativo nazionale di mettere in relazione il Sistema delle Agenzie, quelli delle Aree protette e della Ricerca, al fine di favorire la crescita e gli scambi di idee e di informazioni su questo aspetto della conoscenza, così vasto e complesso. In tal senso stiamo raccogliendo le richieste di collaborazione ed organizzando le attività future, assieme ai colleghi delle ARPA, delle Aree Protette e degli Istituti ed Università interessati ad applicare e testare i diversi indici biologici ed ecotossicologici.

Dovendo verificare, ad. es., l'attendibilità e le modalità di indagine del metodo QBS-ar, che finora è stato applicato principalmente nell'Italia centro-settentrionale, su diversi tipi di suolo e di uso del suolo, il Servizio NAT-BIO ha stipulato una convenzione con il Dipartimento di Ecologia dell'Università della Calabria, per correlare i dati di una campagna sperimentale, in corso in Calabria sul QBS-ar, con quelli dei popolamenti di coleotteri carabidi, seguendo il metodo del prof. P. Brandmayr.

Al fine di sviluppare procedure di riferimento (manuali e linee guida) per il monitoraggio biologico della biodiversità dei macromiceti e dei mixomiceti d'Italia, il Servizio NAT-BIO ha attivato una convenzione con l'Associazione Micologica Bresadola (AMB) – Fondazione Centro Studi Micologici. L'intento è anche quello di avvalersi di una struttura importante della micologia italiana, partner della Confederazione Europea di Micologia, che con i suoi 50 anni di attività specifica nel settore e i suoi 120 Gruppi Micologici sparsi su tutto il territorio può contribuire alla stesura di una flora micologica nazionale corredata di una lista di specie rare con distribuzione sporadica e di una lista di specie a rischio di estinzione.

Con questa Associazione, in collaborazione con l'ARTA Abruzzo e con l'Ente Parco Velino-Sirente, è stata avviata una campagna di biomonitoraggio dei suoli, confrontando questa volta i macromiceti con il QBS-ar e con le canoniche analisi chimico-fisiche, comprensive delle determinazioni dei metalli pesanti. Come già

¹ Si Citano tra gli altri: "Soil Bioindicators: Soil Fauna in Environmental Assessments and Controls - An Introduction to an Italian Soil Biomonitoring Programme". Atti del Seminario Internazionale "*Biological and Ecotoxicological Indicators Applied to Soil and Contaminated Sites*" ARPA Piemonte, Torino, 19 maggio 2000; "Indicatori ecotossicologici per il suolo e i siti contaminati". Atti del 1° Congresso Italiano di Ecotossicologia, Torino, 7 luglio 2000; "Indicatori ecotossicologici per il suolo e i siti contaminati". Atti del Seminario Nazionale "*Il contributo del Centro Tematico Nazionale – Suolo e Siti Contaminati alla conoscenza del suolo*". Torino, 11 ottobre 2000; "The Vision of the Italian Programmes". OECD Satellite Meeting "Resilience of the subsurface ecosystem to anthropogenic disturbances: Present and Future Applications" presso ISME-9 - IX International Symposium on Microbial Ecology, Amsterdam, 28 agosto 2001; "Italian Indicators for Soil Degradation". Side Event APAT alla prima sessione del Comitato per la Revisione dell'Implementazione della Convenzione per la Lotta alla Desertificazione CRIC1 - UNCCD presso la FAO a Roma, 19 novembre 2002; "OECD Expert Meeting on Soil Erosion and Soil Biodiversity Indicators", Roma, 25-28 marzo 2003; "Background teorico e applicazione dell'indice di Qualità Biologica del Suolo (QBS - Parisi, 2001)" XIII Congresso della Società Italiana di Ecologia, sessione "Bioindicatori e bioaccumulatori", Como, 10 settembre 2003.

accennato, e come ben evidenziato nella guida tecnica che viene presentata nel convegno oggi, il QBS-ar è uno degli indici biologici utili a descrivere il bioma edafico, così come sono disponibili altri metodi e ci auguriamo che altri ancora verranno aggiunti in futuro, grazie anche alla partecipazione di molti presenti.

Un'ultima iniziativa del Dipartimento Difesa della Natura di APAT sugli indicatori biologici del suolo riguarda l'attività del Servizio Indicatori e Tossicologia Ambientale intrapresa in collaborazione con il Settore Studi e Valutazioni, del Servizio Interdipartimentale Emergenze Ambientali, circa la caratterizzazione e classificazione degli indicatori tossicologici nei comparti biotici e abiotici. Tale studio è organizzato in più database contenenti la normativa nazionale ed europea, la specie, l'habitat, il tipo di test al quale sono stati sottoposti ed una scheda informativa su ciascun indicatore. La parte informatica è strutturata in modo tale da poter essere consultata dal sito dell'Agenzia, dagli utenti interessati, a partire dal dato che si ritiene utile conoscere: ad esempio la normativa, o i test utilizzati, o il comparto e così via.

Si prevede di coinvolgere altri Istituti e Università al fine di reperire i dati più recenti o, dove non esistessero del tutto, di promuovere studi finalizzati a questo.

Bibliografia

- ANPA, 2000. *Indicatori e indici ecotossicologici e biologici applicati al suolo*. ANPA, Roma. RTI CTN_SSC 3/2000.
- APAT, 2002. *Guida tecnica su metodi di analisi per il suolo e i siti contaminati - utilizzo di indicatori ecotossicologici e biologici*. APAT, Roma. RTI CTN_SSC 2/2002.
- Decreto Ministeriale Ambiente 471/99 - Regolamento recante criteri, procedure e modalità per la messa in sicurezza, la bonifica e il ripristino ambientale dei siti inquinati, ai sensi dell'articolo 17 del Decreto Legislativo 5 febbraio 1997, n. 22, e successive modifiche e integrazioni.
- Karlen, D.L., Mausbach, M.J., Doran, J.W., Cline, R.G., Harris, R.F., Schuman, G.E., 1997. Soil quality: a concept, definition, and framework for evaluation. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61: 4-10.
- Schoenholtz, S.H., Van Miegroet, H., Burger, J.A., 2000. A review of chemical and physical properties as indicators of forest soil quality: challenges and opportunities. *Forest Ecology and Management* 138: 335-356.

Elenco regionale di alcune attività sul monitoraggio biologico dei suoli, comunicate al Servizio Parchi, Ecosistemi e Biodiversità (NAT-BIO)

Regione/Provincia	Biomonitoraggio del suolo in corso	Biomonitoraggio del suolo in programma
Piemonte	ARPA, Università (QBS-ar, Maturity Index, ecotossicologia, microbiologia)	
Valle d'Aosta		ARPA (QBS-ar)
Lombardia	ARPA, Università (QBS-ar, IQ, Maturity Index, zoocenosi edafiche, ecotossicologia, microbiologia)	
Trento		Amministrazione Provinciale (coleotteri)
Bolzano	Museo di Storia Naturale	
Veneto	Università (zoocenosi edafiche, ecotossicologia, microbiologia)	ARPA (QBS-ar)
Friuli Venezia Giulia	ARPA (QBS-ar), ISNP (microbiologia)	
Liguria		ARPA (QBS-ar, entomocenosi)
Emilia Romagna	Università, ARPA, ENEA (QBS-ar, QBS-c, Maturity Index, microbiologia, ecotossicologia)	
Toscana	ISSDS, Università (ecotossicologia, zoocenosi edafiche, microbiologia)	ARPA (QBS-ar)
Marche	Associazione Marchigiana per l'Agricoltura Biologica (QBS-ar)	
Umbria	ARPA (zoocenosi freatiche)	
Lazio	ISNP, Università (microbiologia, QBS-ar, zoocenosi edafiche)	ARPA (QBS-ar)
Abruzzo		ARTA (miceti, QBS-ar)
Molise		ARPA (QBS-ar)
Campania		Università (decomposizione, lettiera)
Basilicata	ENEA (QBS-ar)	
Puglia		
Calabria	Università (coleotteri, lepidotteri, QBS-ar, mesofauna)	
Sicilia		ARPA (QBS-ar)
Sardegna		ARPA (QBS-ar)

* Valle d'Aosta e Campania sono sinora le uniche regioni che non hanno ancora gruppi micologici collegati con AMB per i monitoraggi dei miceti

ARPA – Agenzia Regionale per la Protezione dell'Ambiente
 ARTA – Agenzia Regionale per la Tutela dell'Ambiente (Abruzzo)
 ENEA – Ente per le Nuove Tecnologie, l'Energia e l'Ambiente
 IQ – Indice di Qualità
 ISNP – Istituto Sperimentale per la Nutrizione delle Piante
 ISSDS – Istituto Sperimentale per lo Studio e la Difesa del Suolo
 QBS-ar – Indice di Qualità Biologica del Suolo – microartropodi
 QBS-c – Indice di Qualità Biologica del Suolo – collemboli

LA QUALITÀ BIOLOGICA DEI SUOLI ATTRAVERSO L'USO DEI MICROARTROPODI

Cristina Menta

*Dipartimento di Biologia Evolutiva e Funzionale, sez. Museo di Storia Naturale,
Università degli Studi di Parma*

Il suolo è un'entità estremamente complessa in cui hanno sede molteplici interazioni tra componenti abiotica e biotica e nella quale avvengono processi di degradazione e ricircolo della sostanza organica e dei nutrienti. L'incremento delle pressioni antropiche sull'ambiente, che sta avvenendo in molte parti del mondo, sta causando un rapido cambiamento degli usi del suolo e un'intensificazione delle attività agricole. Questo processo, spesso responsabile della degradazione dei suoli, ha notevole impatto sulla funzionalità e sulla biodiversità degli stessi. Le pratiche di gestione del suolo come l'aratura, la fertilizzazione chimica, la distribuzione di pesticidi ecc. possono determinare cambiamenti delle caratteristiche chimico-fisiche della struttura del suolo, del popolamento microbico e fungino che diventano i responsabili di alterazioni della comunità a microartropodi. La comparazione di suoli caratterizzati da un incremento del livello di disturbo e sottoposti a differente uso, ha messo in evidenza una progressiva riduzione numerica e di complessità delle comunità di microartropodi; in linea generale, l'incremento di uso del suolo è responsabile di una semplificazione della comunità di invertebrati, che vede dominanti specie capaci di tollerare il disturbo.

Sostanze come pesticidi, composti xenobiotici, metalli pesanti e altro hanno effetti sulla funzionalità del suolo estremamente complessi e, in gran parte, non ancora chiariti. L'attività biologica di queste sostanze è fortemente influenzata da fattori quali la concentrazione e la forma chimica delle stesse, il contenuto di sostanza organica, la presenza di agenti chelanti, la natura dei minerali argillosi e il pH, la tessitura e la struttura del suolo. L'applicazione di tali sostanze può avere effetti sulle popolazioni e sulle comunità di microartropodi influenzando la performance degli individui e modificando le interazioni ecologiche tra le specie; per molte sostanze, la sensibilità è specie-specifica. Come è noto, l'effetto provocato da tali sostanze non è in ogni caso di tipo negativo.

Gli approcci tradizionali per la valutazione e quantificazione del degrado del suolo sono riferiti primariamente all'uso di indicatori di tipo fisico, chimico o microbiologico. Il solo impiego di analisi di questo tipo non consente però di ottenere indicazioni relative alla tossicità potenziale di alcune sostanze a livello della componente biotica. Test di tossicità relativi alla componente biotica sono generalmente condotti in condizioni sperimentali e quindi lontane dalle reali condizioni di campo; pur consentendo di ottenere indicazioni preziose, generalmente in tempi rapidi e con costi contenuti, tali test dovrebbero essere affiancati da indici applicati direttamente in campo che consentono una valutazione spesso più realistica dell'eventuale effetto tossico di alcune sostanze. Recentemente, lo sviluppo di indicatori basati sulla fauna edafica sta ricevendo nuovo interesse (OECD, 2003) e l'approccio più moderno è quello di considerare non più un singolo taxon ma più gruppi funzionali e le complesse relazioni che tra essi intercorrono (van Straalen, 1998).

La fauna edafica, complesso di organismi animali che vivono nel suolo e la cui presenza è indispensabile per la funzionalità dello stesso, dimostra una evidente

sensibilità al degrado del suolo e alla conseguente diminuzione di qualità. Da alcuni studiosi, l'*Edaphon* è stato definito come un "super organismo" le cui componenti cooperano attraverso interrelazioni complesse che garantiscono la funzionalità del suolo.

Mancando sostanzialmente il supporto della produzione primaria dipendente dalla fotosintesi all'interno del suolo, acquista un ruolo determinante la catena del detrito, che diventa la base delle reti trofiche ipogee. Molti isopodi, miriapodi, oligocheti, collemboli, acari, larve e adulti di alcuni insetti si nutrono di detriti vegetali e animali che si depositano sul suolo, consentendo quindi la restituzione al suolo della sostanza organica parzialmente decomposta o ridotta in frammenti di minori dimensioni, aumentando da 50 a 250 volte la superficie di attacco a disposizione della microflora; inoltre, nel corso della digestione, la sostanza organica si arricchisce di enzimi e batteri che si distribuiscono nel suolo attraverso le feci favorendo i processi di umificazione. L'azione di organismi come protozoi, nematodi, rotiferi, alcuni collemboli e acari, che si nutrono di batteri, attinomiceti e funghi (sia ife che spore), si esplica attraverso la regolazione della densità e della diffusione degli stessi.

Come è noto, l'azione combinata della pedofauna e della microflora è indispensabile per la chiusura dei cicli biogeochimici di molti nutrienti come azoto, zolfo e carbonio, che vengono trasformati in forme chimiche assimilabili. L'azione operata dalla pedofauna sul funzionamento del suolo comprende inoltre l'attività di scavo, che favorisce enormemente la creazione di spazi all'interno del suolo, aumentando la porosità dello stesso, con conseguente incremento dell'attività batterica aerobia e della velocità di demolizione della sostanza organica, favorendo così la ritenzione idrica e/o i processi di percolazione e lo sviluppo della rizosfera.

Favorendo inoltre il rimescolamento del suolo, l'attività di bioturbazione comporta la traslocazione della sostanza organica dagli strati più superficiali a quelli più profondi e della sostanza minerale verso la superficie. Generalmente, il livello di incidenza che i gruppi edafici attuano sul funzionamento del suolo è in relazione a due fattori: tempo che questi trascorrono nel suolo durante il loro ciclo biologico e grado di attività che hanno durante la loro permanenza nel suolo. Come è noto, alcuni lepidotteri e ditteri permangono nel suolo durante la fase di pupa e conseguentemente concorrono al funzionamento dello stesso solo attraverso l'apporto di sostanza organica e non attuando comportamenti attivi quali predazione, bioturbazione, ecc. a differenza di altri gruppi, come alcuni coleotteri, particolarmente attivi anche in ambiente ipogeo.

Anche il livello di sensibilità al degrado del suolo della fauna edafica non è omogeneamente distribuito tra i taxa ma è generalmente in relazione al grado di interazione che gli organismi hanno con il suolo. Organismi geobionti (o edafobi), animali che compiono l'intero ciclo biologico nel suolo, mostrano adattamenti morfologici, fisiologici e comportamentali al suolo completi che li rendono incapaci di abbandonare il suolo qualora si verificano condizioni avverse. A differenza degli edafobi, i geofili temporanei o periodici, almeno nella fase adulta, non dimostrano adattamenti all'ambiente ipogeo così evidenti come gli organismi edafobi e, di conseguenza, in situazioni di degrado del suolo sono in grado di abbandonarlo e spostarsi verso condizioni più favorevoli. In linea generale questa capacità rende questi gruppi meno sensibili al degrado del suolo; tipicamente, nell'ambito dei geofili, le fasi larvali, in relazione al loro confinamento al suolo, sono quelle che dimostrano maggiore sensibilità.

I microartropodi edafici, pur avendo origini filogenetiche differenti, mostrano alcuni caratteri morfologici di adattamento all'ambiente ipogeo comuni (fenomeno di convergenza adattativa). Tra questi caratteri, la riduzione delle dimensioni del corpo (miniaturizzazione) e delle appendici (zampe, antenne, furca, ecc.), la perdita di funzionalità degli occhi, che in alcuni casi comporta la totale scomparsa degli stessi, sono diretta conseguenza di processi di riduzione di strutture che assumono importanza determinante nell'ambiente epigeo ma che nel suolo perdono la loro funzione. Accanto alla riduzione di queste strutture, la vita nel suolo ha comportato lo sviluppo di recettori (tigmocettori, idrocettori e chemiocettori), spesso presenti non soltanto nella regione preorale e orale, ma su tutto il corpo.

Lungo il profilo del suolo è possibile individuare un gradiente di adattamento crescente, dall'alto verso il basso, del grado di adattamento dei microartropodi al suolo. Tipicamente, in condizioni mesofile, la maggior parte della fauna edafica è concentrata nella lettiera, se presente, e nei primi centimetri di suolo, dove il contenuto di sostanza organica è maggiore. Generalmente, negli strati più superficiali della lettiera sono presenti i rappresentanti della frazione epigea ed emiedafica del suolo, le cui caratteristiche morfologiche consentono loro di far fronte alle rapide variazioni di temperatura e umidità che caratterizzano la superficie del suolo.

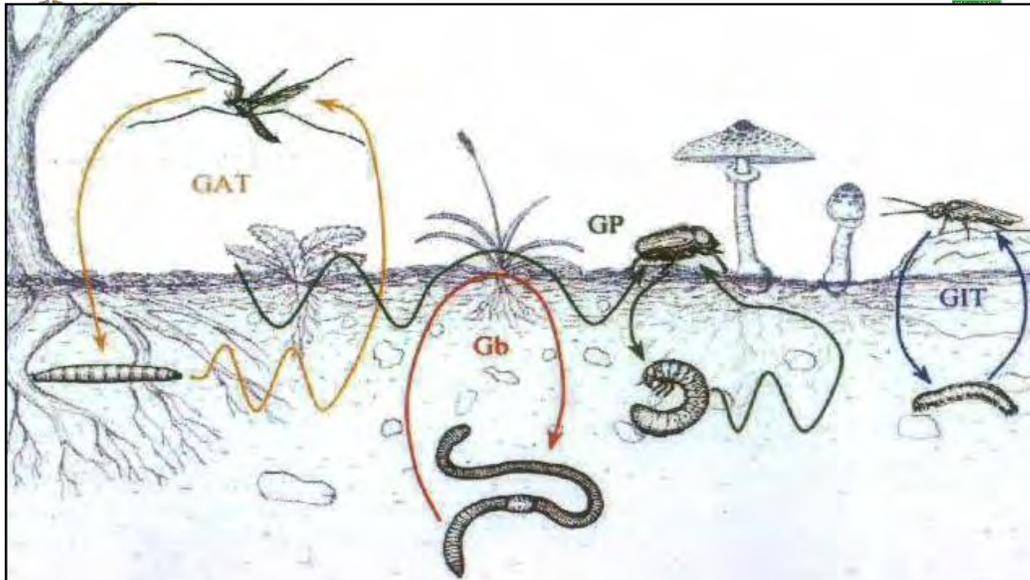
L'ambiente ipogeo è caratterizzato da organismi edafobi, rappresentati tipicamente da proturi, dipluri, alcune specie di collemboli, acari, miriapodi, organismi che mostrano caratteri di adattamento al suolo spiccati. Molti gruppi compiono migrazioni verticali in relazione sia a fattori ambientali (temperatura, umidità, ecc.) sia legati a specifiche attività o fasi del ciclo biologico (foraggiamento, riproduzione, ecc.). L'adattamento al suolo che comporta l'incapacità degli edafobi di abbandonare il suolo, rende questi organismi particolarmente sensibili alle variazioni dei parametri chimico-fisici conseguenti lavorazioni, impiego di fitofarmaci, inquinamento o altre attività antropiche.

Le complesse interazioni che caratterizzano la fauna edafica, il fatto che molti organismi edafobi effettuano spostamenti estremamente limitati, la stabilità della composizione delle comunità provvedono a fornire un punto di partenza importante nelle attività di bioindicazione che consentono di qualificare cambiamenti delle proprietà del suolo causati dalle attività umane (van Straalen, 1998). Recentemente, alcuni autori hanno proposto nuovi metodi di valutazione della qualità del suolo basati sulla componente a microartropodi del suolo; alcuni di questi considerano variazioni nell'ambito di singoli taxa mentre altri, con un grado di complessità maggiore ma di specificità generalmente minore, si basano sull'intera comunità di microartropodi. Dati di valutazione globale della qualità del suolo possono essere ottenuti però soltanto attraverso studi di tipo interdisciplinare, che includano analisi di tipo chimico, fisico e biologico, comprendente non solo la componente microbica, ma anche quella vegetale e animale.

Bibliografia

- AA.VV., 2004. *Guida tecnica su metodi di analisi per il suolo e i siti contaminati – Utilizzo di indicatori biologici ed ecotossicologici*. APAT, RTI CTN_TES 1/2004.
- Cortet J., Gomot-De Vaufly A., Poinot-Balaguer N., Gomot L., Texier C., Cluzeu D., 2000. The use of invertebrate soil fauna in monitoring pollutant effects. *Eur. J. Soil Biol.*, 35, 115-134.

- Gardi C., Jacomini C., Menta C., Parisi V., 2003. Evaluation of Land Use and Crop Management on Soil Quality: application of QBS (Biological Quality of Soil) methods. *OECD Expert Meeting on Soil Erosion and Soil Biodiversity Indicators*, 25-28 March, 2003, Rome, Italy, p.p. 531-540.
- Gardi, C., Menta, C., Parisi, V., 2002. Use of microarthropods as biological indicators of soil quality: the BSQ sintethic indicator. 7° International Meeting of Soils with Mediterranean Type of Climate. Valenzano, Bari, settembre 2001. *Selected papers*, 297-304.
- OECD, 2003. *Expert Meeting on Soil Erosion and Soil Biodiversity Indicators, 25-28 March, 2003*, Rome, Italy, p.p. 531-540.
- Parisi V., Menta C., Gardi C., Jacomini C., 2003. *Evaluation of Soil Quality and Biodiversity in Italy: the Biological Quality of Soil Index (QBS) approach*. OECD Expert Meeting on Soil Erosion and Soil Biodiversity Indicators, 25-28 March, 2003, Rome, Italy.
- Parisi V., Menta C., Gardi C., Jacomini C., Mozzanica E. Microarthropod Communities as a Tool to Assess Soil Quality and Biodiversity: a new Approach in Italy. *Agriculture, Ecosystems & Environment. In press*.
- van Straalen, N.M., 1998. Evaluation of bioindicator systems derived from soil arthropod communities. *Appl. Soil Ecol.* 9, 429-437.
- Zanella A., Tomasi M., De Siena C., Frizzera L., Jabiol B., Nicolini G., 2001. *Humus forestali*, Edizione Centro di Ecologia Alpina – Trento, 47.



Classificazione di alcuni rappresentati della pedofauna in relazione al tempo di permanenza nel suolo durante il ciclo biologico (da HUMUS FORESTALI, Zanella *et al.* 2001).

Geobionti Gb (o edafobi): organismi estremamente adattati alla vita nel suolo, incapaci di abbandonarlo anche per breve tempo, in quanto le caratteristiche ecomorfologiche, sia della fase giovanile sia di quella adulta, non consentono loro di sopravvivere negli ambienti epigei. A questo gruppo appartengono molte specie di miriapodi, isopodi, acari, oltre alla maggior parte dei collemboli, dipluri e proturi.

Geofili inattivi temporanei GIT: organismi che vivono nel suolo solo per alcune fasi inattive del ciclo biologico (estivazione, fase di pupa, ecc.). L'utilizzo del suolo come rifugio nella stagione invernale è comune a molti insetti come numerose specie di coleotteri, emitteri, ortotteri ecc.

Geofili attivi temporanei GAT (o edafofeni): abitano nel suolo in modo stabile per buona parte del loro ciclo vitale, attraversando uno o più stadi di sviluppo in esso ed emergendo come adulti, tipicamente alati. Oltre alle cicale e ad alcune specie di neurotteri, gli insetti di questo gruppo appartengono per la maggior parte agli ordini Diptera, Coleoptera e Lepidoptera, il cui ciclo di sviluppo comprende la fase di pupa. La relativa inattività della pupa rende, come nel caso dei geofili inattivi temporanei, il suo contributo alle funzioni del suolo molto basso, mentre le larve hanno una importanza considerevole sia come detritivori sia come predatori, specialmente negli ambienti in cui la loro densità è elevata. Nella comunità del suolo le larve degli insetti occupano una posizione particolare perché, se da un lato la forma del corpo, il metodo di locomozione e l'attività trofica rendono questa fase adattata alla vita ipogea, esse vivono nel suolo transitoriamente ed emergono nella fase adulta con morfologia e comportamenti anche estremamente diversi rispetto alla larva.

Geofili periodici GP: organismi che conducono una fase del ciclo biologico nel suolo e, nel corso dell'intera vita, pur potendolo abbandonare, mantengono rapporti con esso entrandovi periodicamente per trovare nutrimento, deporre le uova, sfuggire a condizioni climatiche sfavorevoli, ecc. Molti coleotteri (Carabidae, Scarabeidae, Cicindelidae) conducono lo stadio larvale nella lettiera o nei primi orizzonti del suolo mentre nello stadio adulto il suolo viene utilizzato come fonte trofica, rifugio e altro.

ATTIVITÀ DELLA SOCIETÀ ITALIANA DELLA SCIENZA DEL SUOLO (SISS) SU BIOLOGIA E MICROBIOLOGIA DEL SUOLO

Anna Benedetti

Istituto Sperimentale per la Nutrizione delle Piante - Roma

La Società Italiana della Scienza del Suolo, fondata a Firenze il 18 febbraio del 1952, ha annoverato tra i primi soci nomi eccellenti della microbiologia del suolo tra i quali Gino Florenzano, che ne è stato anche presidente dal 1976 al 1983 e Onorato Verona, (I presidente della III Commissione) sui cui libri di testo chiunque abbia voluto accostarsi a questa materia deve aver studiato.

La biologia e la microbiologia vengono da sempre affrontate e sviluppate all'interno della Commissione III, ma anche per la stretta attinenza con essa, nella Commissione IV che si occupa specificatamente di fertilità del suolo e nutrizione delle piante.

La fertilità del suolo fu definita nell'800 da Cosimo Ridolfi come la mirabile attitudine del suolo a produrre, definizione molto vicina a quella fornita da Doran e Parkin nel 1994 circa la qualità del suolo descritta come "la capacità del suolo di interagire con l'ecosistema per mantenere la produttività biologica, la qualità ambientale e promuovere la salute animale e vegetale. Fu Tommasi già nel prima metà del 900 a parlare di "dottrina integrale" della fertilità, espressa dalle interrelazioni che legano la fertilità fisica, chimica e biologica. Spesso si legge che la fertilità chimica è tra le tre la più importante in quanto mancando questa vengono a mancare le altre due, in realtà non è esattamente così, forse un biologo o un microbiologo direbbe che senza i microrganismi non solo non ci sarebbe il suolo, ma probabilmente nemmeno la vita sulla terra. In realtà l'intuizione di Tommasi continua ad essere attualissima, è necessario porre sullo stesso livello sia la fertilità chimica, che quella fisica e biologica.

Definire la fertilità biologica è sempre stato però più complesso rispetto alla fertilità fisica e chimica in quanto vengono a mancare soglie di riferimento puntuali ed inequivocabili, come possono essere ad esempio una misura di pH o di pF collocabili all'interno di una scala di valori in grado di suggerire una indicazione immediata. Nel caso del pF ad esempio si parla addirittura di valori corrispondenti al punto di appassimento di una pianta o della capacità di saturazione d'acqua di un suolo. È questo il motivo per il quale probabilmente l'uso di indicatori biologici e microbiologici per la caratterizzazione della qualità del suolo si è andato affermando solo recentemente.

A livello nazionale molto si è fatto e si sta facendo nell'ambito delle Commissioni III e IV della SISS. L'impegno della Società si è inizialmente configurato nella stesura di manuali di metodi di analisi microbiologica e biochimica del suolo; parlare un linguaggio comune è il primo passo verso una serie e vera divulgazione della scienza. A differenza dei metodi di analisi chimica del suolo, la cui prima edizione risale agli anni 60, la pubblicazione dei metodi di analisi microbiologica e biochimica avvenuta nel 2003 ha costituito una autentica novità e, grazie al sostegno del Ministero delle Politiche Agricole e Forestali e all'Osservatorio nazionale Pedologico la pubblicazione dei metodi di microbiologia e biochimica rispettivamente sulla G.U. n. 179 del 1.08.2002, n° 61 del 13.03.2004 all'avanguardia tra i paesi europei in quanto nessun'altra nazione attualmente è dotata di metodi di riferimento nazionale. Vale qui la pena

di spendere qualche parola relativamente all'importanza di disporre di metodi di analisi nazionali di riferimento. Essi costituiscono una guida comune per differenti utenti che spaziano da ricercatori, agli operatori del settore sia delle strutture pubbliche di controllo, che di aziende private.

Lavorare con un protocollo comune significa gettare la base ad esempio per un banca dati nazionale, per la progettazione di reti di monitoraggio comuni, poter confrontare dati nel tempo e nello spazio, ecc. Disporre di manuali e metodi di riferimento nazionale necessita comunque di una guida al loro uso ed è questa la differenza fondamentale che corre tra la pubblicazione dei metodi di analisi sulla G.U. e i manuali. Corredati di capitoli introduttivi e note esplicative l'uso di ogni gruppo di metodi può essere facilitato e razionalizzato. I metodi sono inoltre la base da cui partire per individuare indicatori di qualità del suolo tra i diversi parametri proposti nei manuali è possibile verificare se ve ne sia qualcuno in grado di descrivere e rappresentare una determinata situazione e successivamente procedere alla sua validazione in tal senso.

Attualmente queste tematiche sono di grande interesse a livello internazionale e soprattutto europeo. Nello scorso aprile si sono conclusi i lavori preparatori da parte della DG XI "ambiente" sulla strategia della conservazione del suolo propedeutica ad una direttiva sul suolo annunciata per il 2004, ma rinviata al prossimo anno. Il lavoro che si è sviluppato nel corso del 2003 è stato organizzato in 5 gruppi di lavoro a loro volta costituiti da Task Groups.

Notizie più puntuali, compresi tutti i documenti prodotti, sono riportati sul sito: <http://www.europa.eu.int/comm/environment/soil/>

- Contaminazione
- Erosione
- Sostanza organica e biodiversità
- Monitoraggio
- Ricerca

Il lavoro realizzato verrà pubblicato a cura dell'UE in 5 rapporti di sintesi corrispondenti ai diversi gruppi di lavoro.

Per quanto attiene alla tematica relativa alla biodiversità è stato focalizzato che è fondamentale distinguere tra metodi di analisi per la biodiversità della mesofauna e quelli relativi ai microrganismi del suolo molto meno consolidati e più difficilmente standardizzabili pertanto in un futuro piano di monitoraggio sarà più semplice inserire i primi e lasciare ancora appannaggio della ricerca i secondi.

L'opera editoriale nel settore della biologia del suolo della SISS conta al momento di due volumi il primo relativo ai metodi di analisi di microbiologia del suolo di cui (coordinatori Nannipieri P. e Picci G.) ed il manuale di metodi di biochimica del suolo (coordinatori Benedetti A. e Gianfreda L.) di cui si riportano di seguito gli indici.

METODI DI MICROBIOLOGIA

Presentazione

Introduzione

I. Prelievo, preparazione e conservazione del campione da sottoporre ad analisi microbiologiche e biochimiche

1. Campionamento, preparazione e conservazione

II. Valutazione delle cariche microbiche e gruppi generici

1. Valutazione delle cariche microbiche e gruppi generici
2. Procedimento generale per le conte per via colturale
3. Gruppi generici di microrganismi

III. Gruppi fisiologici di microrganismi

1. Gruppi fisiologici di microrganismi
2. Microrganismi del ciclo dell'azoto. Batteri azotofissatori liberi aerobi ed anaerobi
3. Batteri in associazioni diazotrofe (*Azospirillum*)
4. Batteri in associazione simbiotica diazotrofa (*Rizobi*)
5. Attinomiceti azotofissatori del genere *Frankia*
6. Batteri proteolitici e ammonificanti
7. Batteri nitrificanti
8. Batteri denitrificanti
9. Gruppi fisiologici del ciclo del carbonio
10. Ciclo dello zolfo

IV. Microflora fotosintetica ossigenica

1. Microflora fotosintetica ossigenica
2. Metanobatteri
3. Metodi di studio delle micorrize arbuscolari nel suolo

METODI DI BIOCHIMICA

Presentazione

Introduzione

I. Determinazione della biomassa microbica

1. Determinazione della biomassa microbica del suolo con il metodo della fumigazione
2. *Determinazione dell'ATP estratto con acido fosforico*

II. Determinazione dell'attività della biomassa microbica

1. Determinazione della respirazione del suolo
2. Determinazione del potere mineralizzante del suolo
3. Attività azotofissatrice
4. Attività ammonioossidante

5. Attività denitrificante

III. Determinazione dell'attività potenziale della biomassa microbica

1. Determinazione del potenziale nitrificante
2. Attività ammonificante potenziale
3. Respirazione del suolo indotta dall'aggiunta di substrato (metodo SIR)

IV. Determinazione dell'attività enzimatica nel suolo

1. Ureasi nei suoli
2. Proteasi
3. Fosfatasi
4. Solfatasi
5. Deidrogenasi

Le Commissioni III e IV attualmente stanno lavorando ad un terzo manuale relativo ai metodi di analisi di microbiologica di tipo innovativo, riguardanti le tecniche di biologia molecolare ed ecofisiologica il cui coordinamento è stato affidato a Nerino Miclaus dell'istituto Sperimentale per lo Studio e la Difesa del suolo di Firenze.

Manca invece la programmazione della stesura di un manuale di metodi di analisi biologica dei suoli di cui posso personalmente farmene portavoce in ambito societario in qualità di presidente della IV Commissione.

Mi preme qui sottolineare che volutamente la veste tipografica dei manuali è stata quella di utilizzare dei raccoglitori ad anello nell'intento di rendere dinamica l'opera, aperta ai suggerimenti di altri soci ed all'arricchimento di nuove metodologie.

Sarebbe importante disporre di metodi di analisi biologica del suolo di riferimento nazionale in quanto essi costituiscono invece in sede internazionale un consolidato uso.

Nell'ambito dell'ISO ed in particolare della TC 190 Soil Quality opera il WG 4 Biologia suddiviso in 4 sottocommissioni: biodegradabilità, fauna, flora e microrganismi. Il numero più elevato di standard è disponibile proprio sul tema fauna. Notizie puntuali in materia e possibile reperire sul sito ISO:

<http://www.iso.ch/iso/en/stdsdevelopment/techprog/workprog/TechnicalProgrammeTC/DetailPage.TechnicalProgrammeTCDetail?COMMID=4381>

La Commissione III e IV come del resto nel passato anche per il futuro saranno promotrici di seminari, workshop, giornate di studio su queste tematiche relazionate alla biologia ed alla fertilità del suolo sul Bollettino della Società Italiana di Scienza del suolo sono riportati gli atti dei diversi eventi e come è possibile vedere non poche volte si è parlato di biologia e microbiologia.

Infine è importante ricordare l'attività che l'Istituto Sperimentale per la Nutrizione delle Piante in collegamento con l'Osservatorio Nazionale Pedologico del MiPAF ha intrapreso ormai da anni circa la divulgazione sul territorio nell'intento di fornire un supporto tecnico-scientifico a tutte le amministrazioni pubbliche che intendono utilizzare tali metodiche al fine di iniziare la creazione di una banca dati nazionale utilizzabile anche per piani di monitoraggio.

Per concludere circa le attività della SISS su biologia e microbiologia del suolo è importante ricordare quanto è scaturito a seguito dei lavori tenutisi dalla SISS nel

maggio 2002 presso l'International Centre for Scientific Culture "Ettore Majorana" di Erice relativi a l'emergenza suolo. In quell'occasione venne stilata una risoluzione nella quale alla SISS venne affidato il compito di portare il problema "dell'emergenza suolo" con ogni iniziativa ritenuta utile all'attenzione dei governi di tutto il mondo". Al fine di "mantenere e ricostituire la biodiversità e la pedodiversità che condizionano tutto il sistema vivente e quindi la quantità della vita; a tenere nel dovuto conto che la qualità del suolo condiziona la qualità dell'aria, delle acque e della vita dell'uomo".

Bibliografia

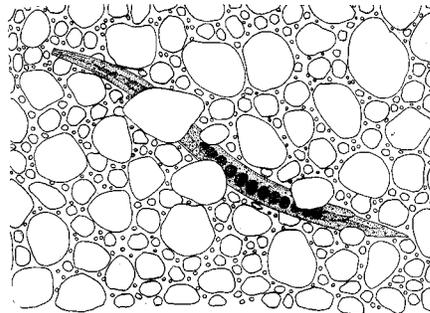
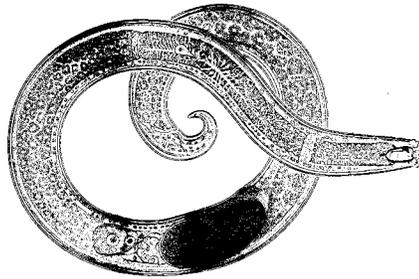
- Benedetti A., de Bertoldi S.: "*Qualità del suolo: criteri di definizione*" Accademia Nazionale delle Scienze detta dei XL. Memorie di Scienze Fisiche e Naturali 118°, Vol. XXIV, pp. 189-204 (2000).
- Benedetti A., Dell'Orco S.: "*Censimento dei concimi minerali CE*". Bollettino SISS Vol. 50 No. 4. pp. 979-981, 2001.
- Benedetti A., P. Nannipieri, A. Trincherà: "*Some observations regarding the standardization of microbiological and biochemical methods of soil analysis*". Meeting del WG4 COST 831, Granada (Spagna) 17 Giugno, 1999. Annual Report. Directorate General XII Science Research and Development (1999).
- Benedetti A.: "*Il Bollettino d'oro*". Bollettino SISS 51 (1-2) 689-693 (2002).
- Bloem J., Hopkins D., Benedetti A. Eds.: "*Microbial methods assessing soil quality*". CAB International. Ed. in press.

VALUTAZIONE DELLA QUALITÀ BIOLOGICA DEI SUOLI MEDIANTE I NEMATODI

Aldo Zullini

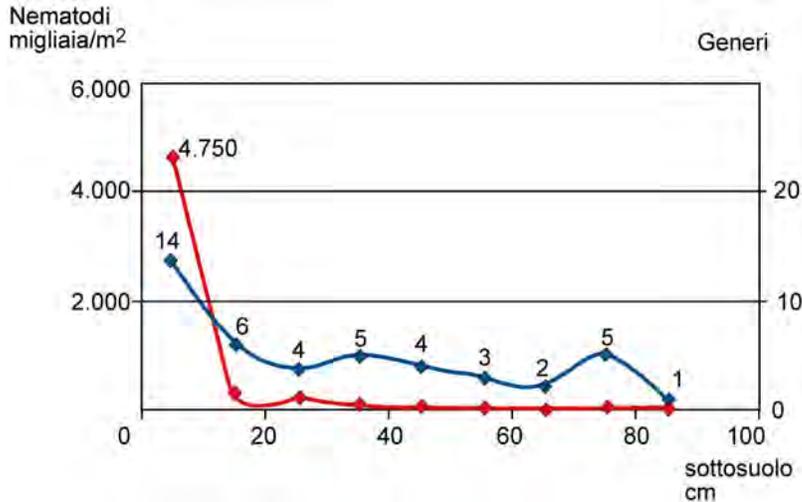
Ordinario di Zoologia dell'Università di Milano - Bicocca

I nematodi vivono in ogni centimetro cubo di suolo o di sedimento, si estraggono facilmente e perciò non è difficile disporre di un campione significativo per ogni tipo di ambiente, da quello più intatto a quello più inquinato. L'analisi nematologica richiede tuttavia una certa preparazione tecnica, facile da acquisire, e una capacità di riconoscimento delle forme che invece è molto difficile da acquisire a livello di genere o specie, ma non difficile a livello di riconoscimento dei gruppi tassonomici elevati (classi, sottoclassi, famiglie).



Nematori per metro quadro di suolo (profondità fino a 20 cm)

Suolo	10 ⁶ /m ²	Generi
<i>Medicago</i>	9,8	31
Sfalcio	8,7	30
Prato	3,7	30
Pascolo	2,9	32
Avena/mais	1,2	17



L'indice più usato per giudicare lo stato ecologico di un suolo è l'Indice di maturità del suolo stesso (*Maturity index*, Bongers, 1990). Serve per giudicare lo stato globale di inquinamento del suolo o di un sedimento d'acqua dolce o del fondo marino. E' un indice nematologico non troppo difficile da usare, perché non richiede il riconoscimento delle specie o dei generi, ma solo delle famiglie (vedi letteratura sopra citata).

Ad ogni famiglia è stato assegnato un valore ecologico che va da 1 (famiglie tipiche di suoli o sedimenti inquinati) a 5 (famiglie tipiche di suoli o sedimenti intatti). I valori bassi (1 e 2) appartengono a nematodi *colonizzatori* (c), cioè opportunisti e capaci di invadere rapidamente habitat instabili, temporanei o inquinati. I valori alti (4 e 5) appartengono a nematodi *persistenti* (p), cioè a ciclo biologico lento e tipici di habitat stabili e non soggetti a stress o a eventi inquinanti.

Pertanto la scala del Maturity Index viene espressa come gradiente di valori c-p. In conclusione, i nematodi vengono così classificati:

c-p1 *enrichment opportunists* (indicatori di inquinamento organico)

c-p2 *general opportunists* (indicatori di altro tipo di inquinamento o di stress)

c-p 3/5 *persisters* (indicatori di buona qualità del suolo)

Maturity Index = MI = $\sum v(i) * f(i)$ dove $v(i)$ è il valore c-p della famiglia i-esima (vedi tabella) e $f(i)$ è la frequenza della famiglia i-esima nel campione studiato. Il MI di una comunità nematologica varia solitamente da circa 1 (situazioni con forte inquinamento eutrofizzante) a un massimo di circa 4 (situazioni stabili e tendenzialmente oligotrofiche).

Se, per esempio, l'analisi di un campione di suolo (possibilmente rappresentativo, cioè derivato da numerosi sottocampioni perfettamente mescolati) dà come risultato: 10% Rhabditidae, 10% Diplogasteridae, 30% Cephalobidae e 50% Qudsiemematidae (famiglie con un c-p, rispettivamente, di 1, 1, 2, 4), allora il valore di MI sarà $0,10*1 + 0,10*1 + 0,30*2 + 0,50*4 = 2,80$. In questo caso si tratta di un valore che indica una qualità del suolo abbastanza soddisfacente.

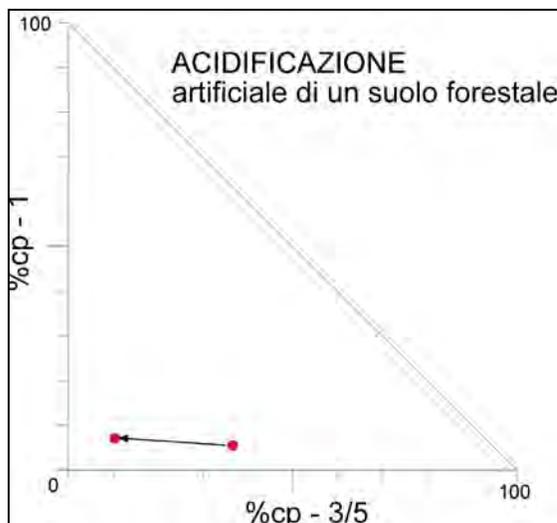
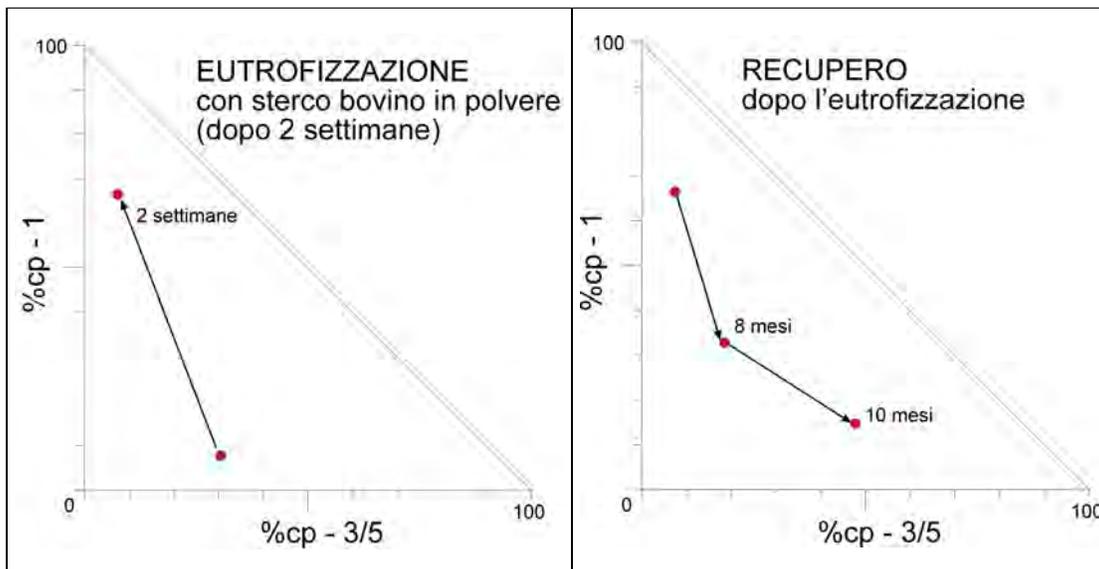
Allorché si voglia studiare l'effetto di uno stress fisico o chimico (per es. inquinamento da metalli pesanti) a prescindere da eventuali effetti eutrofizzanti dovuti a pratiche agricole (concimazione) che potrebbero confondere i risultati, è utile escludere dal

computo gli *enrichment opportunists* (indicatori di inquinamento organico) e cioè le famiglie di nematodi con valore di c-p uguale ad 1. In tal modo l'ambito considerato andrà da c-p 2 fino a c-p 5 e il risultato dell'indice di maturità sarà tanto più basso (cioè tanto più vicino a 2) quanto più forte sarà l'inquinamento inorganico. Tale forma del Maturity Index viene chiamata MI2-5.

Si descrivono di seguito situazioni particolari che alterano gli equilibri all'interno del suolo e quindi variano il valore del Maturity Index.

Eutrofizzazione e recupero

In un diagramma triangolare % c-p 1 versus % c-p 3/5, un suolo normale viene definito da un punto (valore del Maturity Index) che si trova in basso verso metà. Eutrofizzando il suolo con sterco bovino in polvere, si è avuto un netto spostamento del punto verso l'angolo superiore (corrispondente al 100% di c-p1) dopo solo due settimane. Il successivo recupero della qualità del suolo ha richiesto 8-10 mesi, nel corso dei quali il valore dell'MI è ritornato nei pressi dei valori di partenza.

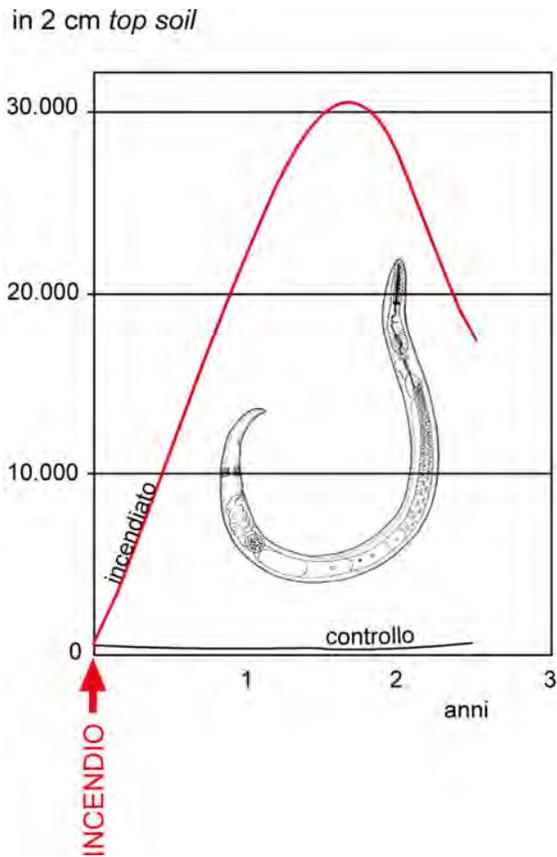


Acidificazione

L'acidificazione di un suolo sposta i valori di MI verso l'angolo (retto) in basso a destra. Tale angolo corrisponde ad un valore virtuale di c-p=2 indicativo di inquinamento organico o, comunque, di stress.

Incendio

Una zona incendiata cambia il proprio manto vegetale, la quantità di lettiera, la quantità di materiale organico disponibile e quindi anche il microclima e la composizione degli strati superficiali del suolo. I nematodi del genere *Paratylenchus*, in particolare, diventano molto abbondanti dopo un incendio e mantengono a lungo (almeno per due anni e mezzo) la loro elevata densità



PRESENTAZIONE DELLA GUIDA TECNICA CTN_TES “GUIDA TECNICA SU METODI DI ANALISI PER IL SUOLO E I SITI CONTAMINATI: UTILIZZO DI INDICATORI BIOLOGICI ED ECOTOSSICOLOGICI”

Pina Nappi

Arpa Piemonte

Il Centro Tematico Nazionale “Territorio e Suolo”, già CTN “Suolo e Siti Contaminati”, nell’ambito delle attività inerenti l’approfondimento sulle conoscenze del suolo, ha rivolto una particolare attenzione agli indicatori biologici ed ecotossicologici.

Il suolo, infatti, nonostante il suo ruolo fondamentale dal punto di vista ambientale, non è stato oggetto di ricerche adeguate per quanto riguarda la sua popolazione biologica. Il biota edafico è ancora poco noto, a dispetto della sua importanza critica.

Il suolo non è una struttura amorfa ma è un’entità vivente molto complessa, in grado di respirare, di degradare i composti organici, di mineralizzare e assimilare sostanze nutritive, di accumulare sostanze di riserva sotto forma di humus. Queste funzioni sono dovute a milioni di organismi micro e macroscopici che popolano il terreno e che intervengono attivamente con il loro metabolismo sulla composizione dello stesso, trasformandolo e rigenerandolo. Non meno importanti sono i rapporti tra i microrganismi e le piante, a titolo di esempio si ricordano i rizobi, importantissimi per la fissazione dell’azoto, e le micorrizze di grande interesse per la nutrizione delle piante.

L’energia entra in questo sistema principalmente tramite la degradazione della materia organica morta, sia di origine vegetale sia animale. La fertilità di un suolo naturale dipende quindi in modo significativo dalla velocità di trasformazione della materia organica, mediata dalla flora batterica. Qualsiasi contaminazione del suolo, che inibisca o elimini i microrganismi in esso presenti o che modifichi la quantità e la qualità della materia organica, può costituire un danneggiamento a breve o a lungo termine dell’intero ecosistema vegetazione-suolo.

Da un punto di vista generale, la fauna del suolo può essere ricondotta a tre grosse categorie:

la microfauna, che comprende gli organismi più piccoli di 0,2 mm (protozoi, rotiferi, nematodi, tardigradi, ecc.), legati alla pellicola d’acqua nelle cavità del suolo, alla rizosfera e alla lettiera; essi svolgono un ruolo fondamentale a livello locale, partecipando alla formazione di associazioni di specie ed esercitando funzioni indispensabili nella degradazione della sostanza organica sebbene in un’area d’azione assai ristretta, nell’ordine di qualche centimetro cubico;

la mesofauna, (animali compresi tra 2 e 0,2 mm) dove interagiscono tra loro i cosiddetti trasformatori della lettiera, principalmente acari, collemboli, larve di ditteri e di coleotteri, enchitreidi, pseudoscorpioni, alcuni miriapodi, ecc., legate ai pori del suolo. La mesofauna, ha una funzione di regolazione e disseminazione delle micro-reti, di triturazione e digestione della materia organica in decomposizione e di formazione di complessi organici e organo-minerali che sequestrano alcune sostanze e ne mobilizzano altre.

La *macrofauna* dove si rileva la presenza di organismi di dimensioni maggiori di 2 mm, e che tradizionalmente includono i cosiddetti “ingegneri del suolo”, come termiti, formiche e lombrichi, ma in cui vanno inseriti anche molluschi, coleotteri, miriapodi, isopodi, e vertebrati quali le talpe, in grado di spostarsi liberamente nel suolo. La macrofauna può modificare in modo notevole anche ampi tratti di terreno (si pensi ad un termitaio), scavando cavità che permettono una circolazione dell’acqua, consumando e spostando in misura rilevante la sostanza organica in decomposizione e controllando in numero e qualità le sottostanti reti.

1. ECOTOSSICOLOGIA AMBIENTALE

Alcuni di questi organismi, particolarmente sensibili, possono essere utilizzati per valutare la qualità dei suoli. Il saggio ecotossicologico utilizza gli organismi come bersaglio e quindi valuta gli effetti delle sostanze tossiche sugli organismi viventi. Questi ultimi possono essere utilizzati in laboratorio nelle prove di tossicità oppure osservati nel loro ambiente naturale e rappresentare indicatori delle condizioni ambientali.

La caratterizzazione chimica del suolo, infatti, non consente, da sola, di esprimere valutazioni relative al pericolo per gli organismi viventi; è necessario pertanto ricorrere agli strumenti biologici ed ecotossicologici per una valutazione complessiva.

Gli organismi utilizzati vengono definiti nel complesso “biosensori” che a seconda delle specifiche caratteristiche possono essere impiegati come bioindicatori o come bioaccumulatori.

Bioindicatore è un organismo vivente che, in presenza di un inquinante, subisce variazioni rilevabili dello stato naturale. Tali variazioni possono portare a modificazioni morfologiche, fisiologiche, danni al patrimonio genico oppure morte dell’organismo.

Bioaccumulatore è un organismo vegetale o animale in grado di sopravvivere e di accumulare nel tempo specifiche sostanze inquinanti in quantità proporzionali sia alle concentrazioni sia ai tempi di esposizione e la cui presenza può essere ricercata direttamente attraverso la determinazione analitica di tali organismi o di alcune loro parti.

2. PERCORSO GUIDA TECNICA

E’ stata effettuata una estesa rassegna bibliografica per verificare quali fossero le metodologie adottate da altri ricercatori in Italia e all’estero e sono stati presi contatti con le istituzioni che adottano le metodologie prescelte, anche su matrici diverse. Questa indagine bibliografica è stata pubblicata da ANPA come RTI 3/2000. Successivamente è stato organizzato un seminario a Torino per confrontare le metodologie individuate con un gruppo di ricercatori venuti dal Canada.

Sulla base della rassegna bibliografica e dei contatti con le istituzioni che adottano tali metodologie, sono state prese in considerazione alcune delle metodiche ritenute maggiormente idonee ed è stato avviata una attività di sperimentazione articolata in tre fasi: prove di tossicità sulla matrice liquida, prove sulla matrice solida e verifica della qualità dei suoli attraverso la ricerca di alcuni gruppi sistematici della pedofauna. Le attività sperimentali hanno coinvolto l’Arpa Piemonte (Dipartimento di Grugliasco e di Torino) e l’Arpa Toscana (Dipartimento di Piombino).

Dopo aver definito il protocollo operativo per le metodologie ritenute più significative è stata predisposta una prima proposta di Guida Tecnica nella quale vengono riportate le metodiche messe a punto dal gruppo di lavoro e metodiche messe a punto da altri ricercatori.

3. STRUTTURA DELLA GUIDA TECNICA

Una prima parte è dedicata al **campionamento**. Si sottolinea l'importanza del campionamento, è noto come un campionamento errato possa inficiare tutta l'analisi successiva. Il campione deve essere rappresentativo di tutto il suolo da analizzare e deve essere una parte del tutto. I criteri generali proposti fanno riferimento al D.M. 25/10/1999, n. 471.

Determinazioni sulla matrice liquida

L'utilizzo delle determinazioni su matrice liquida nasce da due considerazioni. Innanzitutto esse vengono effettuate da molti laboratori e sono entrate nella routine per le analisi sulle acque. Inoltre il suolo è composto da una fase liquida, solida e gassosa ed è nota l'importanza della fase acquosa nella produzione dell'effetto tossico e come sistema di trasporto delle sostanze tossiche presenti nel suolo verso gli altri comparti ambientali.

I saggi riportati sono:

- Saggio di tossicità con *Vibrio fischeri*
- Saggio di tossicità con *Daphnia magna*
- Saggio di tossicità con *Pseudokirchneriella subcapitata* (*Selenastrum capricornutum*)

Determinazioni su matrice solida

Le prove di tossicità, condotte direttamente sulla matrice solida, risentono delle interazioni tra il suolo e il componente tossico, interazioni che esercitano effetti non trascurabili sulla biodisponibilità delle sostanze tossiche. Infatti il suolo si comporta come una trappola per gli inquinanti la cui concentrazione di solito è maggiore rispetto a quella presente negli altri comparti ambientali. D'altronde le prove sulla matrice solida hanno il vantaggio di utilizzare la matrice *in toto* e non solo l'estratto acquoso, avvicinandosi in tal modo maggiormente alla situazione reale.

Nella Guida Tecnica sono riportate i seguenti saggi:

Saggi su vegetali

Per valutare la qualità dei suoli si possono utilizzare come bioindicatori i vegetali, comunemente molto sensibili per la rilevazione delle caratteristiche del suolo in una specifica area. I saggi di tossicità su piante sono generalmente metodi veloci e richiedono un impegno economico molto contenuto. Molte piante si prestano in modo egregio al monitoraggio degli inquinanti nel suolo.

- Saggio di inibizione della crescita radicale
- Saggio di germinazione e allungamento radicale

Saggi su animali

La degradazione e l'inquinamento del suolo possono causare cambiamenti qualitativi e quantitativi nella fauna del suolo, con conseguenze anche gravi sul funzionamento del

suolo. L'uso di bioindicatori può consentire di valutare tali cambiamenti e gioca un ruolo fondamentale nei programmi di monitoraggio del suolo. La fauna edafica impiegata nel monitoraggio degli inquinanti include Nematodi, Enchitreidi, Oligocheti, Gasteropodi, Collemboli, Isopodi, Aracnidi. Nell'ambito di un singolo taxon, sono state individuate alcune specie come organismi nei saggi di ecotossicologia.

I saggi riportati sono:

- Saggio di riproduzione di *Eisenia fetida*
- Saggio di riproduzione di *Folsomia candida*
- Saggio di tossicità cronica con *Heterocypris incongruens*
- Saggio di topssicità/genotossicità con *Panagrellus redivivus*

Saggi di mutagenesi

Un approccio differente è dato dalle prove genotossiche nelle quali l'effetto tossico viene valutato in funzione delle alterazioni che sostanze mutagene inducono a livello genetico.

- Saggio con *Salmonella typhimurium di Ames*
- *SOS Chromotest*
- *Mutatox*

Indici di qualità ambientale

Il biomonitoraggio del suolo è rivolto alla valutazione della qualità del suolo mediante l'utilizzo di organismi viventi. Questi ultimi sono osservati nel loro ambiente naturale e possono rappresentare degli indicatori delle condizioni ambientali.

- Indici di qualità ambientale mediante i Nematodi
- Biomonitoraggio della Pedofauna

4. CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

La Guida Tecnica si rivolge specificatamente a coloro che hanno il compito di valutare lo stato di salute del suolo e non vuole essere un punto di arrivo, ma un punto di partenza per l'avvio a livello nazionale di uno studio organico su questa matrice e per la progettazione di reti di monitoraggio comuni. Tale impegno si realizza con la speranza di diffondere quanto più possibile le conoscenze così acquisite tra gli operatori del settore per effettuare una valutazione della qualità del suolo e dei siti contaminati basata su metodologie concordate e comuni per una comprensione univoca e uniforme.

TRE ANNI DI ESPERIENZE DI APPLICAZIONE DEL QBS IN PIEMONTE

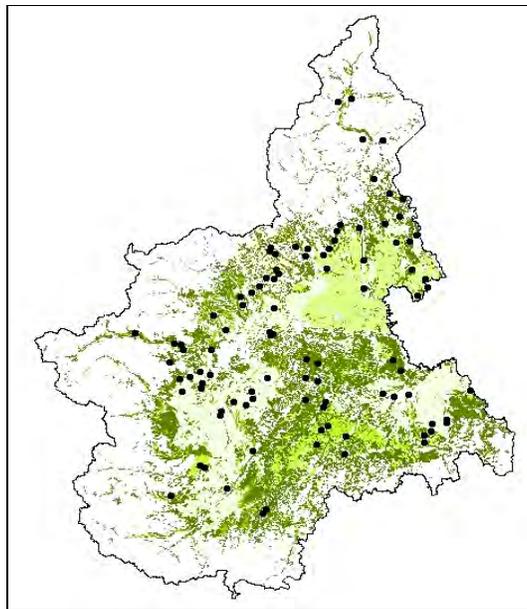
Mariuccia Cirio, Andrea Bottino

Arpa Piemonte, Dipartimento di Asti

Nel corso del 2001 sono stati definiti, nell'ambito dell'attività Centro Tematico Nazionale Suolo e Siti Contaminati, i circa 250 punti di una rete regionale di monitoraggio ambientale dei suoli, con lo scopo di fornire in modo costante e continuativo dati omogenei che permettessero di rappresentare lo stato di alcuni dei principali processi degradativi dei suoli piemontesi.

A questo proposito è stata riconosciuta l'importanza strategica del monitoraggio della qualità del suolo dal punto di vista biologico, che a sua volta ha portato alla consapevolezza della necessità di un accrescimento delle conoscenze riguardo all'ecologia del suolo.

Figura 1 - Distribuzione dei punti della rete di monitoraggio



Fonte: Arpa Piemonte

Per ciascuno dei punti di campionamento, individuati e codificati in modo univoco, è stata effettuata la caratterizzazione pedologica e chimica con particolare riguardo al contenuto in metalli pesanti ed è stata avviato un programma di monitoraggio della qualità biologica del suolo in modo da descrivere uno scenario completo degli aspetti biotici ed abiotici considerati e di porre le basi per una valutazione del suolo come risorsa ecosistemica.

I punti di campionamento sono ubicati in aree di pianura e di collina, distribuiti a maglia irregolare e scelti con criteri di rappresentatività rispetto alle caratteristiche pedologiche

dei suoli e all'uso al quale sono sottoposti; ad ogni punto è stata attribuita una classe di uso suolo del Corine Land Cover fino al terzo livello, e un uso del suolo con codifica ISSDS fino al terzo livello, che consentono, seguendo un tipico livello gerarchico, di aumentare il contenuto di informazione del dato, scendendo da un livello di dettaglio minore verso uno maggiore senza variazione di altri parametri.

Successivamente si sono aggiunti alla rete circa 40 punti appartenenti alla rete a maglia fissa LUCAS, rappresentativi anche di ambienti naturali.

1. METODOLOGIA ADOTTATA

La metodologia applicata alla rete di monitoraggio è il QBS-ar ricavata dalla pubblicazione di riferimento "Parisi V., 2001. La qualità biologica del suolo. Un metodo basato sui microartropodi. *Acta Naturalia de "L'Ateneo Parmense"*, **37**, nn. 3/4, (2001): 97-106. " rispetto alla quale l'Agenzia ha elaborato e codificato al proprio interno un protocollo per il campionamento e l'analisi poiché nella pubblicazione di riferimento la standardizzazione delle procedure non è esposta.

Nel tempo sono state assunte le modifiche proposte da Parisi e Coll. per quanto riguarda la valutazione dei fattori limitanti che possono inficiare la misura quali l'umidità e la compattazione del terreno e l'abbondanza critica di individui, la classificazione delle forme biologiche, il raggruppamento in classi di qualità, mantenendo invece invariate le fasi di campionamento e di selezione.

Tabella 1 - Confronto tra la metodologia attualmente proposta per la standardizzazione dal Museo di Storia Naturale dell'Università di Parma e quella usata da Arpa Piemonte

“Elemento” del metodo	Proposta standardizzazione	Metodo 3x
Costituzione del campione	Tre repliche a distribuzione random all'interno di un'area giudicata omogenea dall'operatore	Tre repliche a distribuzione random all'interno di un'area giudicata omogenea dall'operatore
Prelievo del campione	Con paletta	Con carotatore
Numero di repliche per campione	3	3
Quantità di suolo prelevato in ogni replica	1 Kg	300 gr circa
Quantità totale di campione prelevato	3 Kg	1 Kg circa
Posizionamento campione nel laboratorio	Su tre diversi estrattori	Tutte e tre le repliche su un unico estrattore
Selettore per ogni campione	3	1
Lettura della selettura	Si ottengono selettore da leggere separatamente: per ogni campione è necessario leggere tre selettore	Si ottiene un'unica selettore: per ogni campione viene letta una selettore
Elaborazione dati: possibilità di effettuare analisi spettrale e/o altro tipo di analisi statistica	Si	No
Vantaggi del metodo	Possibilità analisi spettrale, maggiore probabilità di campionare gruppi poco rappresentati numericamente	Risparmio nello sforzo di campionamento
Svantaggi del metodo	Rischio di sovrastima dei valori, elevato sforzo di campionamento	Rischio di sottostima dei valori, impossibilità di effettuare analisi spettrale

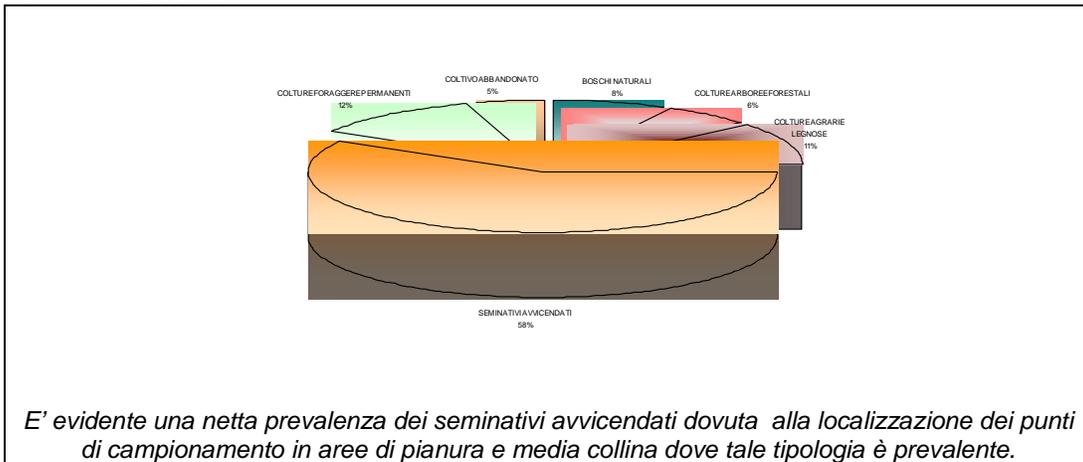
Tutti i campioni relativi ai suoli agrari sono stati raccolti a fine coltura in modo da valutare la situazione di maggior impatto; per i campioni relativi ai boschi naturali, il periodo di raccolta dei campioni è primaverile o autunnale.

La raccolta dei campioni è stata preceduta da sopralluoghi mirati a verificare la permanenza della coltura identificata.

2. RISULTATI OTTENUTI

E' stata predisposta una valutazione dei risultati a tre anni dall'applicazione della metodologia su 378 campioni raggruppati secondo il primo livello di uso del suolo.

Figura 2 - Distribuzione percentuale dei campioni per tipologia di uso del suolo su dati triennali



Fonte: Arpa Piemonte

Il numero consistente di osservazioni ha reso possibile l'affinamento del dettaglio delle categorie più popolate che sono state analizzate raggruppando i dati al secondo e al terzo livello di uso del suolo.

I dati presentati sono i valori di QBS-ar ottenuti per ciascun campione e raggruppati per categoria di uso del suolo.

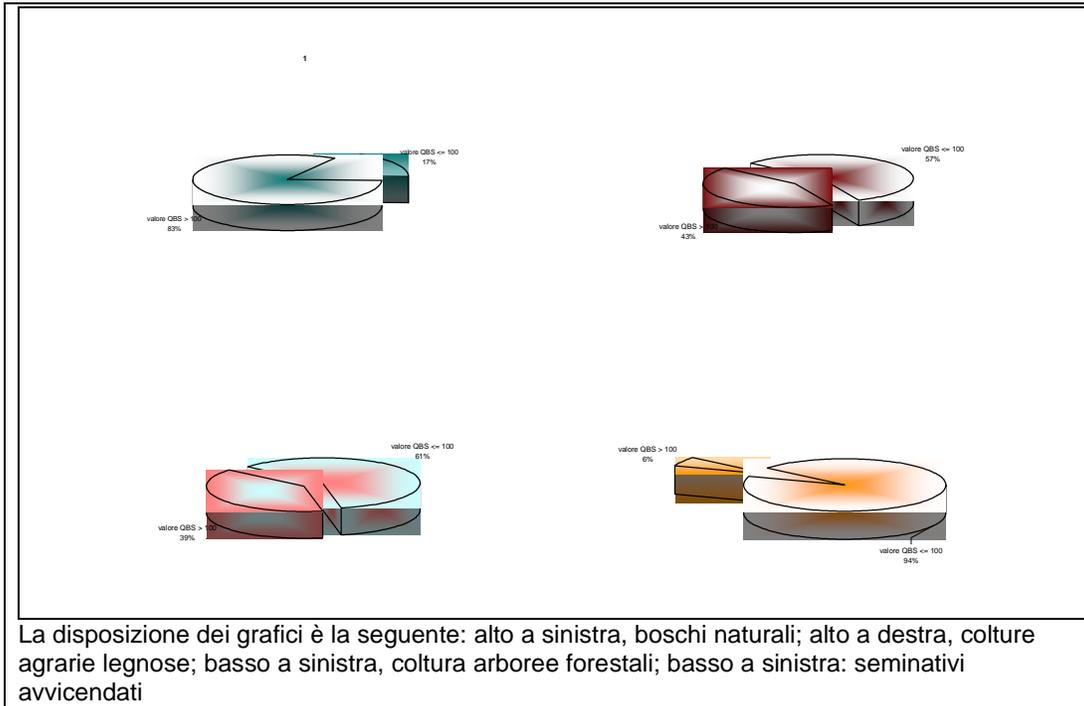
Tali valori sono stati suddivisi in due macroclassi definite dalla percentuale di campioni compresi negli intervalli di QBS-ar ≤ 100 e > 101 dove 100 rappresenta orientativamente il valore che consente il passaggio alle classi di qualità più elevata previste dal metodo Parisi., e in una successiva rappresentazione, in classi di occorrenza di ampiezza arbitraria.

Questo raggruppamento consente di mitigare gli effetti dei valori anomali dovuti ad errori di attribuzione del valore di Emi e alle modeste variazioni dovute al progressivo affinamento del metodo. La classe di qualità, prevista dal metodo, è stata calcolata ma non utilizzata in queste elaborazioni, perché il parametro è stato oggetto di revisioni più frequenti.

Si nota come la percentuale di valori nella classe > 100 passando dai boschi naturali ai coltivi abbandonati, sia in progressivo decremento e come i valori rilevati siano significativamente diversi tra di loro.

Si passa infatti dall'83% di dati nella classe > 100 di QBS-ar per i boschi naturali al 43% per le colture agrarie legnose, al 39% e 27% rispettivamente per le colture arboree forestali e foraggiere permanenti, fino al 6% per i seminativi avvicendati e i coltivi abbandonati con una evidente perdita di qualità biologica del suolo che indica un diverso impatto dei sistemi colturali messi in atto già rilevabile a grande scala.

Figura 3 - Percentuale di campioni compresi negli intervalli di QBS-ar ≤ 100 e > 100 su dati triennali



Fonte: Arpa Piemonte

La distribuzione in classi di occorrenza evidenzia due andamenti principali: andamento regolare come nel caso di Boschi Naturali e Seminativi avvicendati, per i quali media e mediana sono coincidenti o con scostamento minimo e i dati presentano una marcata tendenza a raccogliersi verso un valore centrale e andamento irregolare, come nel caso delle colture agrarie legnose e delle foraggiere con notevole dispersione dei risultati

Il comportamento regolare, legato alla consistenza dei dati in condizioni di omogeneità del sistema, indica pertanto una caratterizzazione accettabile del livello di Qualità biologica del suolo della categoria considerata e rende possibile il passaggio ad un dettaglio superiore.

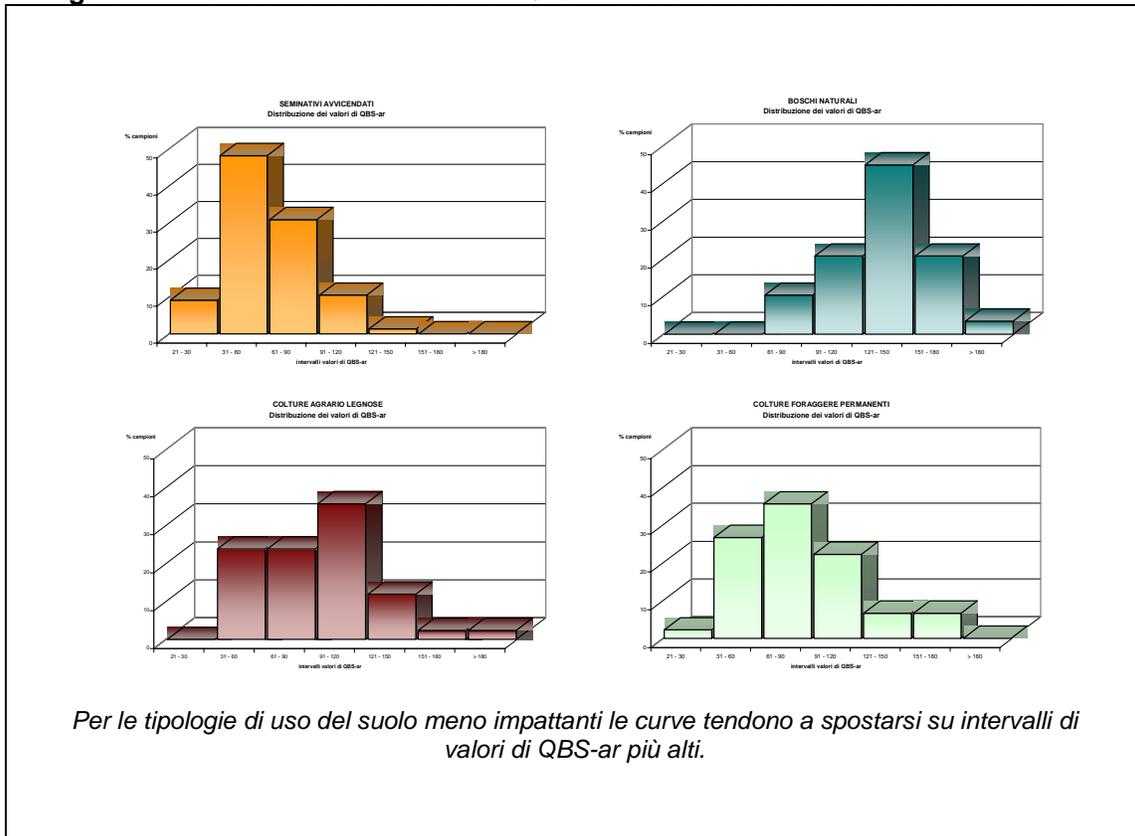
In particolare, nella categoria seminativi avvicendati che presenta un massimo di occorrenze nella classe di valori compresa tra 31 e 60, è stato possibile separare le coltivazioni di mais dai cereali autunno vernini e quindi fornirne la caratterizzazione.

Il comportamento irregolare, quale quello che presenta la categoria colture agrarie legnose, indica contributi differenziati dovuti alle diverse sottocategorie che lo costituiscono; infatti, separando i vigneti, che presentano un numero di dati sufficiente, dalle altre colture legnose si distinguono due andamenti molto differenziati con il massimo relativo ai vigneti su valori nettamente più alti rispetto alle altre colture legnose che a loro volta dimostrano una significativa dispersione dei dati ed indicano quindi la necessità di ulteriori disaggregazioni.

Si vanno quindi delineando una serie di impronte relative alla qualità biologica del suolo tipiche per ciascun uso dei suoli a scala regionale che viene gradualmente arricchita dal livello di dettaglio raggiunto.

Si evidenzia, dall'analisi dei dati di questo triennio, un andamento secondo il quale i valori di QBS-ar che tendono ad avvicinarsi a quelli di ambienti naturali indicano la presenza di sistemi di conduzione agricola meno impattanti.

Figura 4 - Distribuzione dei valori di QBS in classi di occorrenza sui dati triennali



Fonte: Arpa Piemonte

3. APPLICAZIONI

A partire dai primi risultati, in collaborazione con CTN-TES, è stata sperimentata una metodologia di valutazione che ha lo scopo di fornire un contributo alla definizione della qualità delle diverse tipologie di habitat all'interno dell'agroecosistema, sia secondo criteri ecologico biologici che di gestione a partire dalla qualità dei suoli che ne costituiscono parte integrante.

La procedura seguita ha previsto l'integrazione delle conoscenze biologiche, tratte dall'applicazione dell'indice QBS-ar (Parisi 2001), con quelle derivate dalla valutazione di alcuni parametri chimico fisici atti a descriverne la fertilità.

I parametri chimico fisici utilizzati quali indicatori sono: a) il valore del pH in relazione alla capacità di solubilizzazione degli elementi nutritivi e quindi della loro disponibilità; b) la capacità di scambio cationico (CSC) in relazione all'efficienza del terreno rispetto al rifornimento di elementi nutritivi ed al trattenimento di potenziali elementi inquinanti; c) la percentuale di sostanza organica in relazione alla capacità di strutturazione del terreno.

Si è ritenuto di valutare i parametri descritti, contestualmente alla struttura delle biocenosi del suolo, per il ruolo fisico chimico e biologico che le comunità edafiche svolgono e che concorre al mantenimento dei livelli di fertilità, dove ad una struttura biologica più completa corrisponde una miglior funzionalità, assicurando di conseguenza un soddisfacente livello di biodiversità alla scala utilizzata.

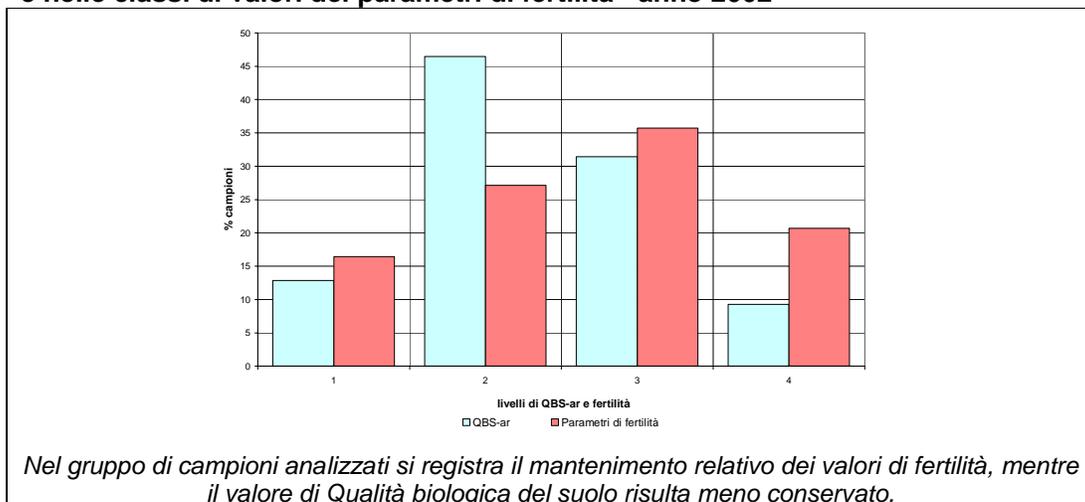
I valori di questi tre parametri vengono raggruppati in intervalli rappresentativi di classi di qualità crescenti valutando contemporaneamente altri aspetti pedologici influenti sulla loro efficienza.

Ai campioni di terreno, su cui è stato possibile effettuare sia l'analisi fisico chimica che quella biologica, sono stati quindi attribuiti due livelli, uno relativo ai valori di QBS-ar ed uno relativo ai parametri di fertilità. Per entrambi i valori, i livelli sono quattro:

- 1° livello → qualità molto bassa
- 2° livello → qualità bassa
- 3° livello → qualità media
- 4° livello → qualità buona

Se si confronta la distribuzione percentuale di campioni nei livelli di valori di QBS-ar e nei livelli di valore dei parametri di fertilità si registra una certa discordanza di dati per cui la maggior parte dei suoli campionati è compreso in un livello di QBS-ar tendenzialmente basso, il secondo, mentre i parametri di fertilità, per la maggior parte raggruppati nel terzo livello, evidenziano una situazione di mantenimento della fertilità.

Figura 5 - Distribuzione percentuale dei campioni nelle classi di valore di QBS-ar e nelle classi di valori dei parametri di fertilità - anno 2002



Fonte: Arpa Piemonte

Questo confronto indica una probabile dipendenza dello stato della componente biotica da ulteriori fattori come il compattamento del terreno dovuto al passaggio di mezzi o persone, l'esposizione, la pendenza, le pratiche agricole specifiche legate ai vari usi del suolo, mentre è facilmente ipotizzabile che i livelli di fertilità nei suoli agrari possano essere sostenuti tramite interventi esterni che paiono avere effetti limitati sul riequilibrio del sistema suolo, almeno nell'orizzonte oggetto della valutazione.

L'andamento nel tempo dell'indicatore può contribuire a verificare la conservazione di funzioni ecologiche sostenibile dei suoli, soprattutto nelle loro funzioni naturali, così come espresso anche dal "parere del Comitato delle Regioni in merito alla Comunicazione della Commissione europea (2003/c128/07) " Verso una strategia tematica per la protezione del suolo" che identifica la biodiversità tra le caratteristiche distintive del suolo nei confronti della quali attuare strategie di protezione.

4. PROSPETTIVE

Nel corso del 2004 verranno eseguiti campionamenti in circa 30 punti distribuiti sul territorio regionale piemontese. Alcuni di questi (in particolare i seminativi) coincideranno con i siti già inseriti nella rete di biomonitoraggio della qualità biologica dei suoli; mentre, relativamente a diversi usi del suolo (in particolare suoli forestali e colture ecocompatibili) ne verranno inseriti di nuovi. I prelievi verranno effettuati nel periodo primaverile con eventuale ripetizione nel periodo autunnale.

Nell'ambito della campagna di campionamento è prevista l'applicazione del protocollo di sperimentazione QBS-ar. Nell'ambito della proposta di standardizzazione delle metodologie di analisi della qualità biologica del suolo, si intende procedere al confronto tra la metodologia semplificata utilizzata da ARPA Piemonte dal 2001 (QBS-ar) e la proposta presentata dal Museo di Storia Naturale dell'Università di Parma. Questo al fine di evidenziare eventuali differenze o corrispondenze tra i risultati ottenibili, nonché segnalare l'eventualità di poter ottimizzare lo svolgimento dei campionamenti e delle analisi ottenendo risultati attendibili e confrontabili.

Contemporaneamente è stato avviato di un progetto pilota, nell'ambito delle attività di ARPA Piemonte per il CTN Neb, *Task 07.02.04b* "Sperimentazione attraverso casi studio della proposta operativa della Rete di Monitoraggio della Biodiversità" tramite il quale viene sperimentata la possibilità di utilizzare i campionamenti effettuati nell'ambito della rete di monitoraggio della qualità biologica suolo (mediante applicazione dell'indice QBS – Parisi, 2001) per una valutazione della biodiversità della struttura biocenotica del suolo.

L'applicazione del metodo può contribuire a discriminare la tipologia di coltura meno impattante, il livello di conservazione dei prati polifiti e a valutare le caratteristiche di diverse tipologie di suolo forestale basandosi su parametri di biodiversità.

Lo scopo del lavoro è quindi quello di analizzare sia la struttura delle comunità dei microartropodi in aree a diversa tipologia ambientale (con particolare riguardo agli agroecosistemi): campi agricoli coltivati con metodi tradizionali e non, aree forestali a diverso grado di protezione e aree prative di margine, sia contemporaneamente di valutare i parametri chimico-fisici e pedologici dei suoli indagati.

Ci si propone inoltre, sulla scorta di quanto sperimentato, di arrivare alla definizione di un indicatore integrato (o un modello di valutazione integrata della qualità biologica del



suolo) che comprenda sia le conoscenze biologiche derivanti dall'applicazione dell'indice QBS, sia fattori interagenti quali: parametri che caratterizzano gli equilibri chimico_fisici del suolo esaminato (pH, CSC, % sost. organica), indicatori di pressione determinati da azioni antropiche e da eventuali altre criticità presenti.

I dati sono stati forniti dai Dipartimenti di Torino, Alessandria, Asti, Biella, Cuneo, Novara, Verbania, Vercelli.

**GLI ACARI ORIBATEI COME INDICATORI DELLA
QUALITÀ BIOLOGICA DEI SUOLI**
Casi di studio effettuati dal Dipartimento di Biologia Evolutiva
dell'Università di Siena

Gaia Pigno, Massimo Migliorini, Fabio Bernini

Dipartimento di Biologia Evolutiva, Università di Siena

Le specie esistenti in un dato sistema ambientale esprimono il risultato di processi adattativi e quindi una delle problematiche centrali della biologia e dell'ecologia è scoprire e verificare quali siano i legami tra la diversità biologica, l'evoluzione e la funzionalità degli ecosistemi. In particolare nel suolo si verificano processi di decomposizione, di trasformazione dell'azoto e di produzione gas traccia che, in buona parte, sono mediati dagli organismi animali che in esso vivono e che sono in grado di aumentare il turnover dei nutrienti (Kandeler *et al.* 1999) e di intervenire attivamente sulla composizione del terreno, trasformandolo e rigenerandolo.

Le zoocenosi edafiche sono però continuamente esposte a un gran numero di impatti, come l'erosione, le pratiche agricole e silviculturali, la deposizione di inquinanti e, non ultimi, gli incendi. Tuttavia la documentazione sui reali effetti e sull'evoluzione di queste comunità nel loro insieme al variare delle condizioni ecosistemiche risulta scarsa e frammentaria. La letteratura scientifica sulla bioindicazione risale agli inizi del 1900, ma è solo negli ultimi anni che tra i biologi sta crescendo un sempre maggiore interesse per lo studio della biodiversità del suolo e della sua dinamica nello spazio e nel tempo come un fattore cruciale nella comprensione dell'evoluzione degli ecosistemi (Noss, 1990; van Straalen, 1998).

L'attenzione si va sempre più rivolgendo verso l'uso di invertebrati terrestri, in particolare gli acari oribatei offrono alcuni vantaggi nella valutazione della qualità degli ecosistemi terrestri. Essi sono tra i principali rappresentanti della mesofauna edafica, presentano una diversità elevata, comprendendo attualmente circa 7-8000 specie, divise in 147 famiglie e circa 1045 generi e rappresentano la componente più numerosa in individui, dopo funghi, batteri e nematodi, raggiungendo alcune centinaia di migliaia di individui per m² di suolo, sono facilmente campionabili ed i campionamenti possono essere effettuati in ogni stagione. Inoltre presentano scarsissimi adattamenti o modificazioni per la dispersione così che difficilmente possono sfuggire alle eventuali condizioni di stress (Behan-Pelletier, 1999).

La principale azione degli acari oribatei si esplica con la frammentazione della sostanza organica, che sarà ulteriormente attaccata da altri organismi, essi danno inizio, attraverso il percorso digestivo, all'incorporazione nel suolo dei composti organici, permettendo la formazione dei complessi organo-minerali ed infine, stimolano e regolano l'attività batterica e fungina, concorrendo alla disseminazione delle spore o dei microrganismi stessi (Angelini *et al.*, 2002).

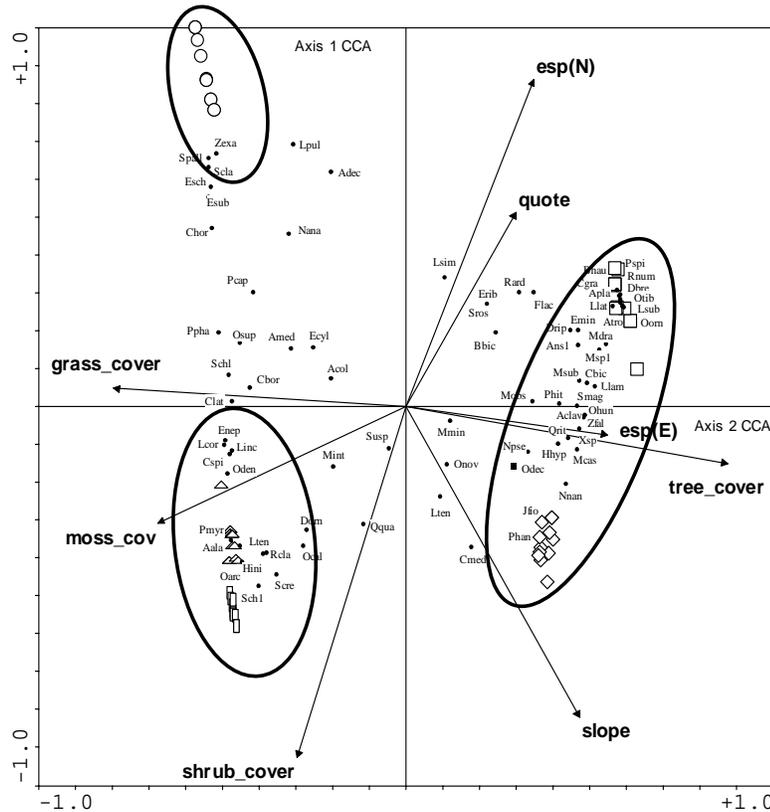
L'impiego dei microartropodi edafici come indicatori della qualità del suolo significa trovare una maniera economica ed efficace per seguire gli effetti sull'ambiente di una causa di disturbo, sia essa una sostanza chimica sversata, o un cambiamento nell'uso, nella struttura e nella copertura del suolo, quale ad esempio un disboscamento o un incendio.

L'informazione è, tuttavia, legata al tipo di scala che viene scelta. Se si adoperano indicatori a livello di caratteristiche di singolo organismo, si otterranno risposte valide per il breve termine, ma con scarsa rilevanza ecologica; scegliendo indicatori a livello di popolazione, specie, associazioni di specie o comunità, invece, si avranno risposte valide per periodi di tempo progressivamente maggiori e la rilevanza ecologica cresce conseguentemente (Behan-Pelletier, 1999). Anche la scelta della scala spaziale fornisce un diverso tipo di informazione: a scala "locale" le informazioni che si potranno ricavare saranno quasi esclusivamente legate ai fattori ecologici di quella particolare porzione di territorio, mentre adottando una scala più ampia (a livello di "paesaggio" oppure "regionale") dovremo considerare, nel bagaglio informativo anche il fattore biogeografico.

Ricerche svolte dai ricercatori del Dipartimento di Biologia Evolutiva dell'Università di Siena in alcuni dei più caratteristici ambienti presenti in Val d'Orcia (una faggeta da alto fusto localizzata ad una quota inferiore al normale range altitudinale del faggio, un bosco misto governato a ceduo, una brughiera, un prato alla sommità del poggio di Pietraporciana e un ginestreto localizzato in un'area a "biancane", depositi argillosi di aspetto cupuliforme tipiche delle Crete Senesi) comprese nel "Sistema delle Riserve Naturali delle Province di Siena e Grosseto" (Riserve Naturali di "Lucciolabella" e di "Pietraporciana") hanno fornito un'utile indicazione sul valore di biondicazione di tali cenosi in ambienti naturali o soggetti a pregresso sfruttamento agricolo e silvicolturale (Migliorini *et al.*, 2002).

L'analisi delle comunità oribatologiche raccolte durante tutto l'anno 1999 ha rilevato un "gradiente di integrità" tra le stazioni discriminando nettamente gli ambienti più conservativi (faggeta) da quelli più disturbati (biancana) e evidenziando come porzioni di territorio relativamente vicine tra di loro, con caratteristiche vegetazionali, ambientali, microclimatiche e silvicolturali diverse, possiedono comunità edafiche distinte (Figura 1).

Figura 1 - Ordinamento ottenuto attraverso l'Analisi Canonica delle Corrispondenze (CCA)



Sono rappresentate nella figura le specie di acari oribatei, le unità di campionamento (Faggeta: quadrati; Bosco misto: rombi; Prato: cerchi; Brughiera: rettangoli; Biancana: triangoli) e le variabili ambientali rilevate mensilmente.

A questo livello di scala l'analisi della corologia dei singoli taxa raccolti, associata alla loro autoecologia, assume una fondamentale chiave di lettura dell'ambiente. La presenza negli ambienti boschivi, più umidi, ricchi di sostanza organica ed esposti a settentrione di elementi mesofili come *Paraliochthonius globulifer*, *Paratritia baloghi*, *Porobelba spinosa*, *Multiopopia glabra* e *Scheloribates quintus*, finora segnalati solo nel centro e nord Europa, evidenzia come, a queste latitudini, la loro presenza sia circoscritta solo agli ambienti boschivi, più umidi, ricchi di sostanza organica ed esposti a settentrione.

Le specie prevalentemente termofile o xerotermofile a gravitazione sudeuropea, o mediterranea s.l. *Arthrodamaeus mediterraneus*, *Licnobelba latiflabellata*, *Metabelbella interlamellaris*, *Zetorchestes falzonii* e *Lauropia tenuipectinata* sono state rinvenute nel bosco ceduo e negli arbusteti assieme alla presenza di entità ubiquiste che, in alcuni dei contesti ambientali indagati, rappresentano un segnale di disturbo ambientale. La pregressa cessazione delle attività agricole e pastorali in alcune porzioni della Riserva Naturale di "Lucciolabella" conferma questo dato ma la contemporanea presenza di elementi silvicoli come *Phthiracarus globosus*, *Hermanniella dolosa*, *Damaeolus asperatus* suggerisce l'esistenza di un probabile, graduale ripristino in corso verso la successione vegetazionale più evoluta, quale è il bosco termofilo.

Purtroppo la realtà delle Riserve Naturali non riflette le reali condizioni ambientali presenti nel resto degli ecosistemi terrestri che risultano essere, sempre più frequentemente, interessati da eventi drammatici rappresentati, ad esempio dagli incendi o da fenomeni di inquinamento.

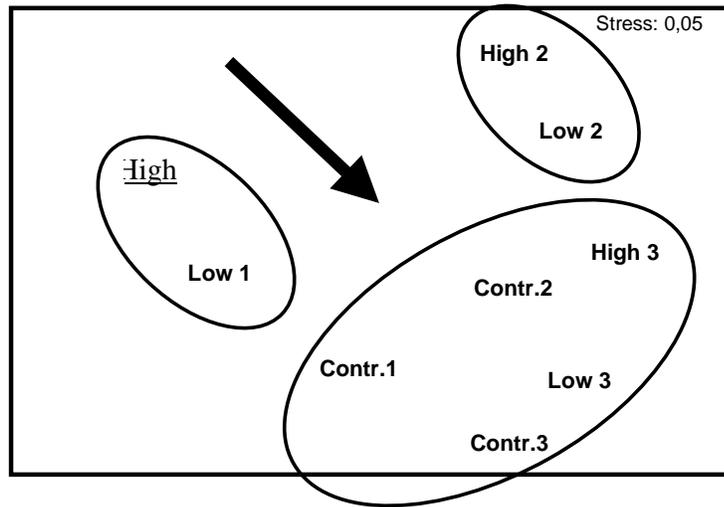
Il fuoco, ad esempio, è capace di influenzare tutti i compartimenti ambientali (atmosfera, pedosfera, biosfera) con effetti difficilmente prevedibili in quanto dipendono dall'interazione di molti fattori, quale il regime degli incendi stessi (frequenza, intensità, stagione, ecc.), le caratteristiche edafiche e climatiche del luogo e i cambiamenti vegetazionali imposti dal fuoco stesso. Il fuoco riduce l'eterogeneità degli habitat con un effetto che è legato alla perdita di vegetazione e lettiera, induce cambiamenti nella disponibilità delle risorse oltre a interessare la composizione delle comunità biotiche del suolo. La sensibilità al fuoco è, tuttavia, diversa nei diversi gruppi di organismi edafici e per questo motivo è stata intrapreso uno studio nella Riserva Naturale "Castel Volturno" (CE) per valutare gli effetti di una sequenza di incendi controllati, di diversa intensità (parcelle di macchia mediterraneo sottoposte ad incendio superficiale e profondo), sulla dinamica delle popolazioni di acari oribatei con dati raccolti rispettivamente 245, 364 e 728 giorni dopo gli incendi.

Le comunità oribatologiche raccolte pur mostrando, evidenti, gli effetti del pesante stress ambientale rappresentato dagli incendi deliberatamente appiccati per scopi scientifici nel luglio 2000 hanno, tuttavia, mantenuto almeno in parte, la propria connotazione faunistica originale, di carattere fortemente mediterraneo e più precisamente di area costiera. Il generalizzato aumento delle abbondanze e del numero di specie in tutti i siti alle diverse intensità di incendio nel terzo periodo mostra come le popolazioni indagate seguano un trend inequivocabilmente legato alla distanza temporale dall'evento con una tendenza alla loro ricostituzione, che porta le raccolte effettuate dopo 728 giorni in posizione molto vicina ai controlli (Figura 2).

Lo sviluppo della fauna oribatologica sembra correlato con il recupero e la ricrescita della vegetazione dopo un incendio (Caturla *et al.*, 2000) mostrando un riassetamento legato all'evoluzione dell'ambiente e soprattutto al probabile aumento della quantità di sostanza organica e delle popolazioni fungine, quest'ultime intese come risorsa alimentare principe per la maggior parte degli acari oribatei (Siepel & De Ruyter-Dijkman, 1993).

A questo tipo di evoluzione ambientale si associa spesso la presenza di entità ubiquiste, con grandi capacità adattative che per prime riescono a sopraggiungere dalle aree limitrofe: un esempio ci viene fornito dal massiccio aumento delle abbondanze, che si verifica nelle aree sottoposte ad incendi durante il terzo periodo, la cui causa è imputabile alla presenza di *Punctoribates punctum* una entità tipica di ambienti aperti (Kováč *et al.*, 2001), con grande capacità adattative le cui popolazioni stanno colonizzando le aree trattate, probabilmente arrivando proprio dalle parcelle-controllo adiacenti analizzate per la presente ricerca.

Figura 2 - Ordinamento effettuato con il non-metric Multidimensional Scaling (n-MDS 2)



L'ordinamento è basato sulla matrice di similarità ottenuta applicando l'indice di Bray-Curtis alle abbondanze medie di acari oribatei raccolti nelle tre date di campionamento ed aggregati per intensità di incendio (High1, High2, High3; Low1, Low2, Low3; Contr.1, Contr.2, Contr.3). La freccia indica il gradiente temporale identificato nella distribuzione degli acari oribatei.

Anche l'inquinamento sta interessando sempre più frequentemente l'ambiente edafico. La presenza di livelli crescenti di contaminazione da metalli pesanti possono avere conseguenze sulla composizione e sulla dinamica delle comunità oribatologiche data il loro elevato accumulo e persistenza negli strati superficiali del suolo.

Un esempio significativo dell'apporto di metalli pesanti negli ecosistemi terrestri, è legato all'utilizzo di munizioni soprattutto nelle aree destinate a poligoni di tiro. Sebbene il piombo metallico che si trova nel suolo dei poligoni si deposita su di un'area ristretta, le alte concentrazioni di questo elemento possono rappresentare un potenziale rischio per la salute dell'uomo e degli altri animali (Murray *et al.*, 1997).

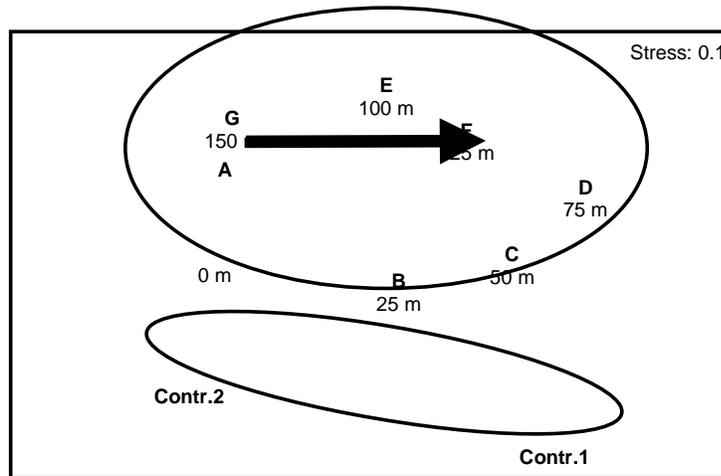
Uno studio effettuato nell'area di raccolta delle munizioni in un poligono di tiro al piattello vicino a Siena ha mostrato come le concentrazioni di Pb, Sb (i principali costituenti dei pallini) e della frazione solubile del Pb nel suolo raggiungono elevatissime concentrazioni (ben oltre i limiti consentiti dalla legge italiana - D.M. 25 October 1999 n. 471) in tutta l'area di indagine seguendo un andamento legato alla traiettoria delle munizioni

A fronte delle elevatissime concentrazioni di tali metalli, gli effetti sulla fauna oribatologica sono risultati più qualitativi che quantitativi, poiché l'analisi statistica effettuata sul numero di specie (35), l'abbondanza e gli indici di diversità applicati non ha mostrato differenze statisticamente significative. Sebbene Cortet *et al.* (1999) affermi che il disturbo causato dagli inquinanti può avere sia un impatto quantitativo che qualitativo sulla fauna edafica, Bargagli (1998) fa notare che l'abbondanza da sola non sempre rappresenta un parametro efficace nella valutazione dell'impatto da metalli pesanti; dato che la diminuzione di individui di alcune specie o gruppi di specie può essere compensato da incremento numerico di altre entità metallo-tolleranti.

Gli acari oribatei sono capaci di bioaccumulare alte concentrazioni di metalli ma, come riferiscono Zaitsev & van Straalen (2001), esistono larghissime differenze in questa capacità tra i vari taxa.

L'ordinamento effettuato con il n-MDS (Figura 3) e la successiva analisi delle similarità tra i gruppi identificati (one-way ANOSIM) ha mostrato differenze significative nell'ordinamento dei siti anche se non sono state rilevate evidenti correlazioni con tali metalli.

Figura 3 - Ordinamento effettuato con il non-metric Multidimensional Scaling (n-MDS)



L'ordinamento è basato sulla matrice di similarità ottenuta applicando l'indice di Bray-Curtis alle abbondanze medie di acari oribatei raccolti nelle nove stazioni di campionamento. La freccia indica il gradiente di inquinamento. Concentrazioni di Pb ($\mu\text{g/g}$) determinate nei suoli delle nove stazioni di indagine (A= 223 $\mu\text{g/g}$; B= 268 $\mu\text{g/g}$; C= 212 $\mu\text{g/g}$; D= 915 $\mu\text{g/g}$; E= 1898 $\mu\text{g/g}$; F= 1576 $\mu\text{g/g}$; G= 624 $\mu\text{g/g}$; Contr.1= 82.5; Contr.2= 80.5 $\mu\text{g/g}$).

Si presume che la fauna identificata all'interno del poligono risenta anche degli effetti di altri fattori antropici che tendono a sovrapporsi agli effetti dell'inquinamento da metalli pesanti. Le coltivazioni annuali che si succedono nell'area possono influenzare l'intera fauna edafica distruggendo il loro habitat (Bardgett & Cook, 1998) e interferendo sulla disponibilità di risorse alimentari (Klavidko, 2001). L'azione combinata di questi fattori hanno determinato una semplificazione nella struttura dell'oribatocenosi: *Tectocepheus sarekensis*, *T. velatus*, *Scheloribates pallidulus*, *Punctoribates punctum*, vengono normalmente considerati "insensibili" oppure molto tolleranti alle pratiche agricole (Franchini & Rockett, 1996), gli elementi xerofili come *Ceratozetes laticuspidatus*, *Zygoribatula exarata*, tutti pionieri di suoli lontani dalla loro maturità (Skubala, 1995), risultano tipici nelle aree aperte e in habitat disturbati grazie soprattutto al loro elevato potere di dispersione e alto tasso riproduttivo (Usher et al., 1982, Migliorini et al., 2003).

In conclusione la composizione faunistica e la dinamica delle popolazioni oribatologiche rispondono in maniera prevedibile al disturbo ambientale, sia a grande che a piccola scala. Lo studio delle oribatocenosi suggerisce che tra gli artropodi, gli acari oribatei possiedono un elevato potenziale di bioindicazione dello stato delle condizioni ambientali.

Bibliografia

- Angelini, P., Fenoglio, S., Isaia, M., Jacomini, C., Migliorini, M., Morisi, A., 2002. *Tecniche di biomonitoraggio della qualità del suolo*. ARPA Piemonte, Torino, Italia, 106 pp.
- Bardgett, R.D., Cook, R., 1998. Functional aspects of soil animal diversity in agricultural grasslands. *Appl. Soil Ecol.* 10, 263-276.
- Bargagli, R., 1998. *Trace Elements in Terrestrial Plants*. Springer-Verlag and Landes Company, Berlin.
- Behan-Pelletier, V.M., 1999. Oribatid mite biodiversity in agroecosystems: role for bioindication. *Agr. Ecosyst. Environ.* 74, 411-423.
- Caturla, R.N., Raventòs, J., Guàrdia, R., Vallejo, V.R., 2000. Early post-fire regeneration dynamics of *Brachypodium retusum* Pers. (Beauv.) in old fields of the Valencia region (eastern Spain). *Acta Oecologica* 21, 1-12.
- Cortet, J., Gomot-De Vauery, A., Poinsoot-Balaguer, N., Gomot, L., Texier, C., Cluzeau, D., 1999. The use of invertebrate soil fauna in monitoring pollutant effects. *European Journal of Soil Biology* 35, 115-134.
- Franchini, P., Rockett, C.L., 1996. Oribati mites as "indicator" species for estimating the environmental impact of conventional and conservation tillage practices. *Pedobiologia* 40, 217-225.
- Kandeler E., Kampichler C., Joergensen R.G. Mølter K., 1999. Effects of mesofauna in a spruce forest on soil microbial communities and N cycling in field mesocosms. *Soil Biology and Biochemistry* 31, 1783-1792.
- Klavidko E.J., 2001. Tillage systems and soil ecology. *Soil Tillage Res.* 61, 61-76.
- Kováč, L., L'uptáčík, P., Miklisova, D., Mati, R., 2001. Soil Oribatida and Collembola communities across a land depression in an arable field. *Eur. J. Soil Biol.* 37, 285-289.
- Migliorini, M., Petrioli, A., Bernini, F., 2002. Comparative analysis of two edaphic zoocoenoses (Oribatid mites and Carabid beetles) in five habitats of "Pietraporciana" and "Lucciolabella" Nature Reserves (Orcia Valley, central Italy). *Acta Oecologica* 23, 361-374.
- Migliorini, M., Fanciulli, P.P., Bernini, F., 2003. Comparative analysis of two edaphic zoocoenoses (Acari Oribatida; Hexapoda Collembola) in the area of Orto al Serio Airport (Bergamo, northern Italy). *Pedobiologia* 47, 9-18.
- Murray, K., Bazzi, A., Carter, C., Ehlert, A., Harris, A., Kopec, M., Richardson, J., Sokol, H., 1997. Distribution and mobility of lead in soils at an outdoor shooting range. *Journal of Soil Contamination* 6, 79-93.
- Noss R.N., 1990. Indicators for monitoring biodiversity: a hierarchical approach. *Conserv. Biol.* 4, 355-364.
- Siepel, B., De Ruiter-Dijkman, E.M., 1993. Feeding guilds of oribatid mites based on their carbohydrase activity. *Soil Biol. Biochem.* 25, 1419-1497.
- Skubala, P., 1995. Moss mites (Acarina: Oribatida) on industrial dumps of different ages. *Pedobiologia* 39, 170-184.
- Usher, M.B., Booth, R.G., Sparkes, K.E., 1982. A review of progress in understanding the organization of communities of soil arthropods. *Pedobiologia* 23, 126-144.
- van Straalen, 1998. Evaluation of bioindicator systems derived from soil arthropod communities, *Appl. Soil Ecol.* 9, 429-437.
- Zaitsev, A.S., van Straalen, N.M., 2001. Species diversity and metal accumulation in oribatid mites (Acari, Oribatida) of forest affected by metallurgical plant. *Pedobiologia* 45, 467-479.

ESPERIENZE DI BIOMONITORAGGIO DEL SUOLO IN LOMBARDIA

Patrizia Canarini

ARPA Lombardia, Dipartimento di Pavia

Evoluzione dei popolamenti di Acari e Collemboli

In Lombardia l'attività di biomonitoraggio del suolo è cominciata nel 1987, nell'ambito di un progetto sul rischio di utilizzo di esteri fosforici in pioppicoltura. La ricerca era imperniata sugli addetti alla manipolazione e allo spargimento, ma l'introduzione dell'utilizzo della pedofauna per la valutazione degli effetti dei trattamenti antiparassitari sul terreno agrario ha dato un significativo contributo ai risultati.

In quell'occasione, con campionamenti a cadenza mensile, si è valutata l'evoluzione dei cicli stagionali di sviluppo di Acari e Collemboli, con presenza costante in tutti i periodi dell'anno, e attraverso il confronto con un campione di controllo prelevato in area "naturale" si sono evidenziati due tipi di alterazione:

- dopo il trattamento si verificava una riduzione numerica e non si registrava il picco primaverile di popolazione che si manifestava invece nel controllo. Si era quindi in presenza di un effetto tossico diretto;
- sussisteva un effetto indiretto, che portava all'alterazione dei cicli stagionali di sviluppo, evidenziato dalla presenza di picchi di popolazione in tempi diversi rispetto al controllo (Casarini e Pasini, 1989).

Ad analoghi risultati si è pervenuti con un'indagine sugli effetti del phentoate (Casarini *et al.*, 1990a).

Indice di Qualità (I.Q.)

Per la valutazione dell'evoluzione dei popolamenti di Acari e Collemboli ogni campione veniva prelevato in triplo e risultava costituito da tre aliquote di terreno raccolte con pala metallica sui primi cinque centimetri di suolo, l'estrazione avveniva con selettore di Berlese-Tullgren, gli organismi venivano per la maggior parte identificati al livello di ordine e conteggiati.

Su questa base si è successivamente messo a punto un Indice di Qualità (I.Q.) (Casarini *et al.*, 1990b), ottenibile con la seguente formula:

$$I.Q. = \frac{A_{\text{campione}}}{A_{\text{controllo}}} + \frac{D_{\text{campione}}}{D_{\text{controllo}}}$$

A = abbondanza ; D = diversità

Oggetto delle prime applicazioni dell'indice sono stati tre agroecosistemi particolarmente diffusi: vigneto, pioppeto e barbabietola da zucchero. Si voleva valutare l'impatto derivante dall'insieme delle pratiche agricole, dalle lavorazioni del terreno all'applicazione di più fitofarmaci. I risultati compaiono nella tabella 1.

Tabella 1 - Indici di Qualità in ordine decrescente

Tipologia	I.Q. (media dei campionamenti)
Vite A	1,14
Vite B	1,09
Pioppeto A	1,04
Pioppeto B	0,75
Barbabetola A	0,53
Barbabetola B	0,35

Si è effettuata anche un'interessante sperimentazione, mettendo a confronto gli effetti sulla pedofauna della coltivazione del mais condotta in modo tradizionale e in colture biodinamiche. L'indice, su tre campagne di monitoraggio, ha differenziato in modo netto le diverse situazioni (Tabella 2).

Tabella 2 - Risultati dell'indagine sull'impatto della coltivazione del mais tradizionale (A) e biodinamica (B - C)

	A	B	C
Aprile	0,38	0,93	0,99
Giugno	0,36	0,87	0,65
Agosto	0,81	1,08	1,45
Media	0,52	0,96	1,03

L'indice è stato inoltre utilizzato per valutare gli effetti dell'applicazione al terreno di fanghi di depurazione (Genoni, 1993) e della fertirrigazione con liquame suino (Casarini, 1995, dati non pubblicati). Nel primo caso si è osservato l'incremento dell'indice tra il campionamento effettuato prima dello spargimento delle biomasse e a distanza di sei mesi. Nel caso della fertirrigazione i terreni trattati presentavano un indice superiore rispetto agli appezzamenti limitrofi concimati con prodotti chimici.

Anche nella verifica periodica dell'efficacia di interventi di bonifica su suoli contaminati si sono ottenuti risultati soddisfacenti a conforto dell'efficacia delle operazioni effettuate, e sempre con lo stesso metodo, unitamente ad analisi chimiche e tossicologiche, si è intervenuti in seguito a sversamenti accidentali.

Scala di sensibilità

Sulla scorta dei dati a disposizione si è cercato di costruire una "scala di sensibilità" degli artropodi estraibili mediante l'apparecchio utilizzato, rapportando il numero di volte in cui le singole unità sistematiche erano rappresentate nei campioni alle presenze nei controlli, tramite la semplice formula:

$$\text{Sensibilità} = \frac{\text{n.}^\circ \text{ presenze nei campioni}}{\text{n.}^\circ \text{ presenze nei controlli}}$$

In Tabella 3 figurano i risultati ottenuti. Benché rinvenuti nel corso dell'indagine, nell'elenco non figurano i Tisanotteri e gli Isopodi, i primi perché, piuttosto che sensibili,

appaiono occasionali, ed i secondi perché molti, per le loro dimensioni, possono essere bloccati in fase di estrazione.

Secondo questa scala valori vicini all'unità risultano poco significativi, mentre più il rapporto si avvicina allo zero, maggiore è la sensibilità degli organismi presi in esame.

E' chiaro che sarebbe necessario raccogliere un maggior numero di dati, in diverse realtà climatiche ed su diverse tipologie di suoli, ma l'approccio appare estremamente stimolante ed aperto ad approfondimenti dal punto di vista tassonomico.

Tabella 3 – Scala di sensibilità decrescente

Unità sistematiche	Sensibilità
Paupodi	0,07
Proturi	0,14
Geofilomorfi	0,17
Dipluri	0,25
Pseudoscorpioni	0,29
Litobiomorfi	0,35
Diplopodi	0,40
Sinfili	0,51
Imenotteri	0,52
Araneidi	0,59
Ditteri (larve)	0,80
Coleotteri (larve e adulti)	0,82
Acari	1,00
Collemboli	1,00

Limiti dell'Indice di Qualità

Il primo limite è rappresentato dalla difficoltà di rinvenire nell'area di studio il campione di controllo, quella che si potrebbe definire la situazione di riferimento tipica in stato ecologico elevato, in analogia con quanto previsto per i corpi idrici superficiali dalla Direttiva 2000/60/CE.

In teoria, il valore dell'I.Q. si dovrebbe collocare in un intervallo compreso tra 0 e 2, però può accadere che il controllo si presenti apparentemente privo di tracce di antropizzazione ma per i più svariati motivi non risulti idoneo allo scopo: il valore di 2 in questo caso può venire anche ampiamente superato. Esperienza e conoscenza del territorio sono fondamentali per individuare i siti idonei.

In secondo luogo, viene data un eccessivo peso al parametro "abbondanza" dal momento che, ad esempio, la scomparsa di predatori o la disponibilità di maggior quantità di alimento dopo un diserbo meccanico possono favorire il massiccio sviluppo di alcune unità sistematiche: anche in questo caso il valore dell'indice nell'area di studio può superare le due unità. Sotto questo punto di vista, l'indice I.Q. potrebbe essere migliorato, fissando valori limite nell'ambito dell'aspetto quantitativo.

L'indice Q.B.S.

Con questo indice (Parisi, 2001) introduce il concetto di "forma biologica" e supera le problematiche di applicazione dell'I.Q. relative al bianco ed all'aspetto quantitativo.

Proprio perché privilegia l'aspetto qualitativo è meno legato ai cicli stagionali di sviluppo dei microartropodi e quindi si possono ottenere risultati attendibili nei diversi periodi dell'anno, anche se organismi di norma presenti a basse densità potrebbero sfuggire all'osservazione nei momenti più sfavorevoli dal punto di vista climatico. Seguendo le procedure previste dal metodo sono state condotte alcune esperienze in aree agricole ed incolti (Tabella 4).

Si è anche effettuata un'indagine volta ad individuare una strategia di campionamento per la valutazione della qualità biologica del suolo, giungendo alla stessa indicazione data da Parisi: tre campioni, su di un'area omogenea, consentono di dare una valutazione esaustiva della microfauna del suolo. Il prelievo di un quarto campione può però risultare opportuno perché fornisce una maggior sicurezza agli operatori, permettendo di evitare l'utilizzo di una serie di dati che, per i più svariati motivi (accumulo di nutrienti, di fitofarmaci, ecc.) risultassero anomali (Casarini *et al.*, 2003).

Tabella 4 - Sintesi delle applicazioni dell'indice Q.B.S. nell'area pianeggiante della Provincia di Pavia

	Periodo	Q.B.S.
Mais	Giugno 2001	55
Barbabietola da zucchero*	Giugno 2001	61
Pioppeto	Giugno 2001	82
Bosco	Maggio 2003	157
Giardino incolto A	Maggio 2003	159
Giardino incolto A	Dicembre 2003	145
Aiuola urbana	Dicembre 2003	107

* coltivazione senza uso di geodisinfestante

Non solo Q.B.S.

Questo indice si dimostra efficace nel discriminare le diverse situazioni esaminate, una volta acquisite adeguate informazioni preliminari sul sito in esame non presenta grosse difficoltà di applicazione e si presta a molteplici utilizzi, dalla caratterizzazione di siti inquinati alla verifica dei successivi interventi di bonifica, come pure nell'ambito di valutazioni di impatto ambientale, di sostenibilità di pratiche agronomiche.

Quando saranno disponibili esperienze nelle diverse ecoregioni, si potrà affrontare anche la stesura di una "mappa di qualità del suolo" sul territorio nazionale.

Ma il suolo è la matrice ambientale più complessa da affrontare dal punto di vista analitico (fisico, chimico, biochimico, microbiologico, biologico). Per lo studio della fauna edafica è quindi di estrema importanza andare ad approfondimenti su singoli gruppi di bioindicatori: Collemboli, Carabidi e Nematodi sono già risultati idonei allo scopo ed i "microcosmi" offrono interessanti prospettive.

Bibliografia

- Casarini P., Pasini M.A., 1989. Antiparassitari e fauna del suolo. Atti del Convegno "Rischio da utilizzo di esteri fosforici in agricoltura", Pavia, 12/03/1988. La Goliardica Pavese, 47-57.
- Casarini P., Camerini G., Carbone M., 1990a. Effetti del phentoate, un insetticida fosfororganico, sulla fauna edifica. *Inquinamento*, 6, 73-75.



- Casarini P., Camerini G., Carbone M., 1990b. "Agricoltura ed alterazioni della fauna del suolo". *Biologia Ambientale*, 3-4, 5-14.
- Casarini P., Genoni P., Pizzochero N., 2003. Una strategia di campionamento per la valutazione della qualità biologica del suolo. Atti del Seminario di Studi "Nuovi orizzonti dell'ecologia", Trento, 18-19 aprile 2002. Ed. Prov. Aut. Trento, APPA Trento, C.I.S.B.A., 182-185.
- Genoni P., 1995. Effetti dell'uso di fanghi di depurazione sulla pedofauna di alcuni campi coltivati. Ordine Nazionale dei Biologi, VIII Congresso Internazionale "Igiene dell'ambiente e del territorio". Isola capo Rizzuto (KR), 28 settembre-1 ottobre 1995: 89.
- Parisi V., 2001. La qualità biologica del suolo. Un metodo basato sui microartropodi . In: Acta Naturalia de "L'Ateneo parmense" , 37, 3-4, 105-114.

IMPIEGO DI UN MICROCOSMO IN TEST DI BIOMONITORAGGIO AMBIENTALE

Paola Ferrazzi, Emanuela Elia

*Di.Va.P.R.A. Entomologia e Zoologia applicate
all'Ambiente "Carlo Vidano" Università di Torino*

I saggi di tossicità sono solitamente condotti su organismi singoli o su pochi individui alla volta, tenuti, per motivi sperimentali, in condizioni innaturali e in ambienti diversi dai propri, e quindi sottoposti, oltre che all'impatto delle sostanze da testare, a molti tipi di stress, fattore che ha notoriamente forte importanza nella risposte degli organismi.

I microcosmi hanno da tempo dimostrato la loro validità come strumenti di analisi; molte scoperte scientifiche in campo ecologico sono state ottenute grazie a esperimenti condotti mediante l'utilizzo di tale tipo di strutture (Beyers e Odum, 1993; Lawton *et al.*, 1995), risultate particolarmente valide nel saggiare gli effetti di sostanze inquinanti su comunità di organismi (Pratt e Bowers., 1990). Per ottenere dalle prove ecotossicologiche risultati il meno possibile alterati dai sovraccitati fattori di perturbazione, e per poter al tempo stesso valutare l'impatto di molecole tossiche su organismi di diversa sensibilità di risposta e di rappresentatività a livello dei vari livelli trofici e dei differenti comparti ambientali, secondo una metodica statistica ispirata a quelle di Van Straalen e Denneman (1989), l'attenzione si è rivolta all'impiego di un microcosmo per una sperimentazione condotta in collaborazione con FIAT AUTO e con il prof. Guido Badino (Facoltà di Scienze Matematiche, Fisiche e Naturali dell'Università di Torino).

Un microcosmo, articolato in 2 celle uguali, una di saggio e una di controllo, è stato quindi realizzato nel 1997 nei Laboratori Centrali di Fiat Auto per rilevare gli effetti ambientali del toluene e del monossido di carbonio, importanti componenti dei VOC (composti organici volatili) emessi dagli autoveicoli come gas di scarico, su diverse specie animali e vegetali.

Si è quindi studiato il modo per rendere operante la struttura come strumento ecotossicologico, introducendovi componenti biologiche importanti di ecosistemi terrestri e acquatici e valide come bioindicatori dei diversi comparti della biosfera.

A seguito dell'attività scientifica svolta il microcosmo è stato donato ai proff. Ferrazzi e Badino, che con loro tesisti, tra cui la coautrice dott.ssa Emanuela Elia, avevano condotto la ricerca presso Fiat AUTO, e si trova nel laboratorio di Qualità Ambientale del Di.Va.P.R.A. Entomologia e Zoologia applicate all'Ambiente "Carlo Vidano" dell'Università di Torino.

1. FINALITÀ DELL'IMPIEGO DI UN MICROCOSMO

L'utilizzo di un microcosmo consente di:

- disporre di un sistema ecologico artificiale isolato e controllato, sia in relazione ai parametri ambientali, sia in relazione alla diffusione e alla concentrazione delle sostanze immesse;
- evitare la fuoriuscita nell'ambiente delle molecole tossiche saggiate;
- monitorare agevolmente e con continuità lo stato del sistema;

- mantenere gli organismi bioindicatori in condizioni che si avvicinano a quelle dell'ambiente reale, consentendo la presenza di piccole popolazioni, per evitare risposte fisiologiche e comportamentali condizionate dallo stress di condizioni artificiali e di isolamento degli individui;
- consentire la presenza di comunità semplificate, in modo da disporre di un pool di bioindicatori con diversa sensibilità di risposta;
- monitorare e valutare anche risposte comportamentali.

Al fine di illustrare i possibili impieghi del microcosmo come strumento per test ecotossicologici, si presenta una sperimentazione condotta utilizzando tale apparecchiatura, di cui è stata finora pubblicata una sintesi (Badino *et al.*, 2000).



2. MATERIALI E METODI

Caratteristiche del microcosmo

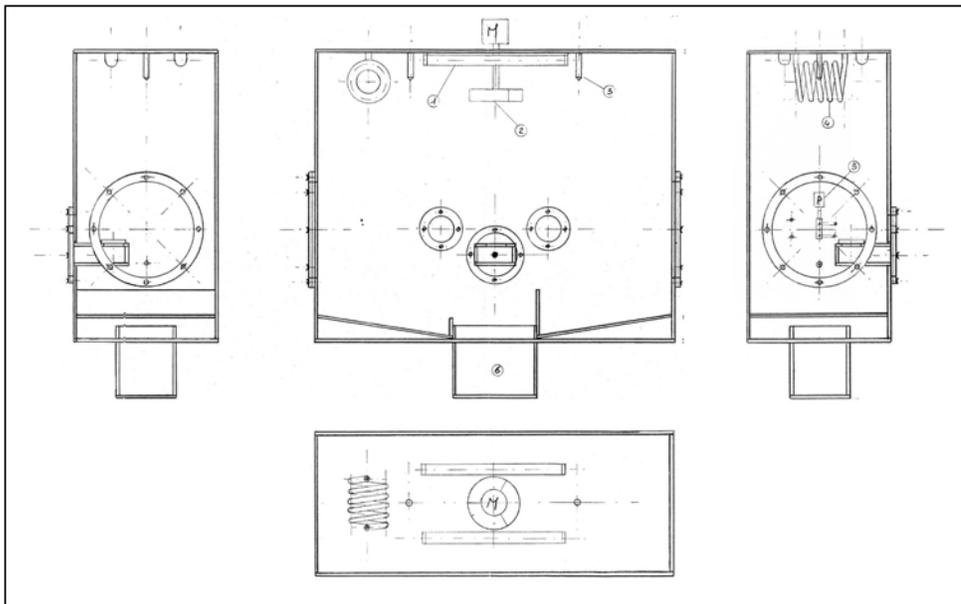
Le celle dei microcosmi, separate ma gestite in parallelo per quanto riguarda i parametri fisici e dotate di sensori per la verifica dei diversi parametri ambientali, sono state costruite da Fiat AUTO con le seguenti caratteristiche:

- Struttura in Plexiglas-Formmasse; cubatura 1,5 m³;
- Guanti in nitrile Sol-Vex; tubi e rivestimenti in teflon; nebulizzatori in acciaio inox e teflon;
- Serpentina di raffreddamento collegata a macchina frigorifera: liquido di raffreddamento alcol etilico; termoresistenza per il controllo della temperatura
- Pompa peristaltica, per garantire una corretta aerazione dell'ecosistema acquatico; Ventola, da FIAT Panda;
- Termoresistenza PT 100;
- Lampade Lum-Delux, (regolate per avere 18 ore di luce e 6 di buio).

Una cella (S) è stata destinata ai saggi; l'altra (C) è stata usata come controllo. La cella S è stata inoltre equipaggiata con un regolatore di flusso con sensore di concentrazione, collegato, mediante tubi in PVC, a nebulizzatori in acciaio inox e teflon.

Tutte le prove sono state effettuate tenendo l'interno delle celle rigorosamente isolato dall'esterno; tutte le manipolazioni sul microcosmo venivano compiute esclusivamente attraverso i guanti. I prelievi per le analisi di routine avvenivano tramite pre-camera di ridotte dimensioni, situata tra i guanti e l'interno alla struttura.

Figura 1 - Copia, in scala, del progetto originale di una delle due celle del "Progetto Geotrone":



Lampade Lum-Delux; 2) Ventola con motore (M); 3) Nebulizzatori; 4) Serpentina di raffreddamento; 5) Pompetta per gorgoglio; 6) Vasca per l'acqua.

Attualmente l'impianto è stato reso più funzionale, con la climatizzazione della stanza in cui è collocato e con l'implementazione di alcuni dispositivi di regolazione dei parametri fisici.

Scelta degli organismi da inserire nel microcosmo

Gli organismi dovevano appartenere, oltre che a diversi livelli trofici, alle principali componenti dell'ecosistema terra, e cioè a terreno, acqua e "ad ambiente aereo".

Gli organismi dovevano essere già stati usati come indicatori biologici o avere comunque un importante ruolo ambientale e presentare sensibilità agli inquinanti.

Gli organismi, adattabili a spazi limitati, non dovevano richiedere tecniche d'allevamento o di coltura troppo complesse, in modo da ottenere in breve tempo popolazioni omogenee e costituite da numerosi individui.

I cicli degli organismi dovevano essere sufficientemente lunghi da poter consentire lo svolgimento di prove prolungate.

Bioindicatori impiegati e sostanze testate

Gli organismi sono stati scelti in modo da rappresentare diversi livelli trofici e differenti matrici ambientali.

Sulla base di tali esigenze i bioindicatori prescelti sono stati:

- per il suolo: l'Anellide Lumbricide *Eisenia fetida* e il Crostaceo Porcellionide *Porcellio scaber*;
- per le acque: il Crostaceo Cladocero *Daphnia magna* e l'alga verde unicellulare *Scenedesmus acutus*;
- per l'ambiente "aereo": gli Imenotteri Apoidei *Osmia cornuta* e *Megachile rotundata*;
- come specie vegetale è stato impiegato *Trifolium repens*.

Sono stati saggiati due importanti componenti delle emissioni motoristiche, toluene e monossido di carbonio, ma per contenere l'elevato numero di dati viene considerato in questo lavoro solo l'impatto del toluene sulle specie edafiche e sugli Apoidei. Le specie acquatiche vengono prese in esame solo per un confronto finale.

Allestimento delle celle

All'interno delle celle, una superficie di 132 dm² leggermente inclinata, ricoperta di un terreno artificiale, proveniente da un suolo agrario non sottoposto a trattamenti fitosanitari e previamente sterilizzato, è stata destinata ad "ambiente" terrestre, una vasca della capacità di 40 litri ad "ambiente" acquatico.

Per la componente acquatica dei microcosmi è stata allestita una catena trofica semplificata, costituita da alghe verdi unicellulari (*Scenedesmus acutus* Turp.) come produttori primari e da crostacei cladoceri (*Daphnia magna* Straus) come consumatori primari.

Per la componente terrestre sono stati utilizzati, come rappresentanti della pedofauna, animali detritivori: *Porcellio scaber* Latr., Crostaceo Oniscoideo, ed *Eisenia fetida* Sav., Anellide Oligochete, allevati presso il Di.Va.P.R.A. settore Entomologia e Zoologia applicate all'Ambiente "Carlo Vidano" dell'Università di Torino.

Tra i frequentatori del compartimento atmosferico, la scelta è caduta sui consumatori primari *Osmia cornuta* (Latr.) e *Megachile rotundata* (F.), Imenotteri Apoidei facilmente adattabili ad ambienti ristretti (Pinzauti e Rondinini, 1991), forniti dal Dipartimento di Coltivazione e Difesa delle Specie Legnose, sezione di Entomologia Agraria dell'Università di Pisa. Nelle celle inoltre, è stato coltivato *Trifolium repens* L. var. *sylvestre*, sia in funzione di produttore sia di bioindicatore, già utilizzato a in tale ruolo da alcuni ricercatori (Fumagalli *et al.*, 1997).

Sono state quindi messe a punto le migliori condizioni di allevamento e riproduzione delle specie prescelte ed è stata definita, per i detritivori, una serie di metodiche di biotossicologia comportamentale atte a valutare effetti subletali negli organismi analizzati. Si è giunti così a elaborare delle procedure di allevamento e parallelamente di bioassay, adatte a definire un protocollo di gestione relativo a ciascuna specie per il saggio di sostanze tossiche.

P. scaber ed *E. foetida* venivano allevati all'interno di celle climatiche a 20 ± 2°C, in vasche di polietilene ad uso alimentare, e nutriti con alimenti vegetali prodotti senza l'uso di sostanze chimiche.

Prove di tossicità acuta

Inizialmente è stato valutato il livello di tossicità acuta del toluene sulle singole specie, inserite una per volta nella struttura in presenza di differenti concentrazioni di inquinante, saggiate in progressione geometrica; in tale ambito è stata identificata la concentrazione letale (LC₅₀) specifica.

Allo scopo, il numero di organismi esposti in sequenza all'interno di ogni cella, non tenendo conto del comparto acquatico, è stato il seguente:

- 10 piante fiorite di *Trifolium repens*; durata del test acuto 5 giorni.
- 200 individui di *Porcellio scaber*. La durata del test acuto per questa specie è stata di 48 ore.
- 200 individui di *Eisenia foetida*; i prelievi sono stati eseguiti dopo un'esposizione di 48 ore;
- 30 individui di *Osmia cornuta* e, successivamente, 30 individui di *Megachile rotundata*. Le prove si sono svolte nell'arco di 48 ore.

La mortalità e la natalità delle specie del suolo veniva valutata con campionamenti random, effettuati con un piantabulbi. Per ogni prova, e relativamente a ciascuna specie, sono state effettuate tre verifiche ed i risultati sono stati mediati.

Prove di tossicità cronica

Successivamente alle prove di tossicità acuta si è allestito il microcosmo nel suo complesso, al fine di rilevare gli effetti della tossicità cronica sulle comunità del microcosmo, per un'esposizione di 25 giorni.

Nella messa a punto del test di tossicità cronica, si è considerato il parametro NOEC, concentrazione massima di effetto non osservato (Marchetti, 1994), come valore attorno al quale distribuire le concentrazioni per il test subletale. Esso è stato calcolato per ogni specie.

La metodica adottata nell'ambito della prova di tossicità cronica ha compreso le seguenti operazioni:

Fase 1. Pulizia integrale delle celle effettuata con mezzi meccanici, lavaggi e raggi UV.

Fase 2. Allestimento dell'ecosistema con l'introduzione nelle celle delle diverse specie, nel seguente ordine: *Trifolium repens*, *Porcellio scaber* (200 per ciascuna cella), *Eisenia foetida* (200 per ciascuna cella), *Osmia cornuta* (30 per cella) e *Megachile rotundata* (30 per cella). Il sistema allestito è stato considerato stabile dopo 28 giorni dall'inserimento degli organismi nelle celle.

Fase 3. Somministrazione di diverse quantità di inquinante: all'interno della cella S sono state predisposte concentrazioni crescenti di toluene, da 5 a 25 ppm (corrispondenti all'ambito di valori NOEC rilevati per le varie specie considerate), per un periodo complessivo di 25 giorni. In corrispondenza dei giorni 11 e 19 inoltre è stata simulata, attraverso appositi ugelli, una pioggia della durata di un'ora.

Fase 4. Controlli quotidiani sugli organismi, per rilevare la mortalità e, nelle specie del suolo, la possibile natalità.

Prove comportamentali

Giornalmente esemplari di *P. scaber* ed *E. foetida*, prelevati casualmente durante i monitoraggio volto a valutarne la sopravvivenza, erano pesati e sottoposti a prove comportamentali, rispettivamente di ribaltamento, pinzettamento e aggiramento di ostacoli per l'Oniscoideo, secondo una metodica messa a punto da Santagostino

(Longhi, 1995), e di interrimento per l'Oligochete. Il tempo di risposta allo stimolo indotto costituiva il parametro utile ai fini di valutare possibili effetti subletali. Con riferimento agli Apoidei Megachilidi, venivano considerati il comportamento di bottinatura e l'eventuale frequenza di nidi pedotrofici artificiali posti nelle celle.

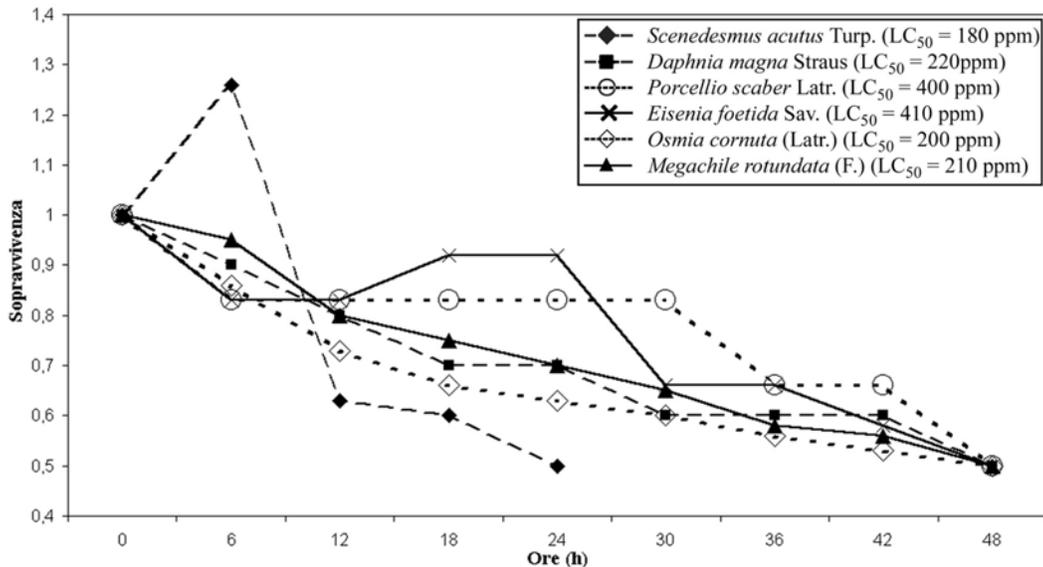
3. RISULTATI

Tossicità acuta

Per *Trifolium repens* la LC_{50} è risultata di 500 ppm, per un'esposizione di 5 giorni. La LC_{50} rilevata nell'ambito di 48 ore su *Porcellio scaber* è stata di 400 ppm: nelle prime 24 ore non si sono verificate variazioni importanti di densità per la popolazione della cella S, solo successivamente si è evidenziato un calo repentino e molto accentuato, a fronte di un numero costante di individui rilevato nella cella di controllo. Dal test di tossicità acuta con *Eisenia fetida* è emersa una LC_{50} di toluene di 410 ppm in 48 ore; il risultato è molto simile a quello rilevato per gli oniscidi, come pure l'andamento della mortalità.

Per entrambe le specie di Apoidei, il test di tossicità acuta ha fatto registrare una LC_{50} di 200 ppm in 48 ore. In presenza di toluene la mortalità si è manifestata precocemente ed è proseguita in maniera accentuata soprattutto nelle prime 24 ore.

Figura 2 - Sopravvivenza [R11] delle specie saggiate durante il test di tossicità acuta con toluene, considerando anche quelle presenti nell'ambiente acquatico



Tossicità cronica

Poiché all'interno del microcosmo sono state rilevate LC_{50} differenti per le diverse specie impiegate, si è provveduto, basandosi sui valori dei vari parametri NOEC, all'elaborazione di una serie di concentrazioni crescenti di toluene, sulla base delle quali effettuare il test di tossicità cronica (Gorbi e Corradi, 1993).

In questo modo, nell'ambito dello stesso test cronico, le diverse concentrazioni somministrate comprendevano i valori NOEC precedentemente calcolati per ciascuna specie. Durante questo test, i rilievi effettuati sulle popolazioni delle due celle non hanno riguardato solo la mortalità come nei test di tossicità acuta, ma anche una serie di risposte secondarie, variabili da specie a specie, indicate di seguito.

Trifolium repens

i parametri valutati per il trifoglio hanno dato i seguenti risultati:

- alterazione del colore delle foglie, valutata qualitativamente. Nel corso dei 25 giorni è stata notata una progressiva clorosi di quasi tutte le foglie delle piante contenute nella cella S. Nella cella C non si è notata alcuna alterazione cromatica;
- alterazione della crescita, valutata qualitativamente. Durante il test, nella cella sperimentale, le piante che prima dell'inizio delle prove possedevano degli abbozzi fiorali non hanno sviluppato alcun fiore, mostrando invece clorosi e necrosi;
- mortalità, non riscontrata, nei 25 giorni di prova, non si è verificata mortalità delle piante in nessuna delle due celle.

Porcellio scaber

Per questo isopode si sono ottenuti i seguenti risultati:

- mortalità: nella cella S non ci sono state perdite di animali durante i primi 11 giorni di test; solo dopo la simulazione di pioggia, la mortalità è comparsa in modo accentuato;
- peso: il peso medio degli animali estratti giornalmente dalle celle con prelievi random ha fatto registrare variazioni trascurabili nella cella C. Nella cella di saggio la presenza di toluene nell'atmosfera non ha dapprima avuto effetti negativi su questo parametro (il peso degli individui era assestato sui valori iniziali); al termine della prova, il peso complessivo della popolazione si era ridotto dell' 8,5%;
- natalità: nella cella S non è stata rilevata alcuna natalità, mentre nella cella C tale parametro ha permesso di definire, alla fine della prova, un rapporto di 3 giovani per un adulto;
- test comportamentali: mentre nella cella di controllo la risposta ai vari stimoli era sempre chiaramente apprezzabile, nella cella S si modificava rapidamente, fino ad avere solamente il 20% di risposte positive sul totale di individui campionati al termine del test cronico.

Eisenia fetida

I risultati dei parametri considerati sono stati:

- mortalità: rispetto a *P. scaber* la mortalità dei lombricidi contenuti nella cella S è risultata minore e con un andamento graduale;
- peso: nella cella S, al termine della prova, si è registrata una diminuzione del peso dei lombrichi (1,4%), mentre nella cella di controllo si è rilevato un incremento ponderale del 2%;
- capacità di interrimento: a fronte del rapido interrimento sempre riscontrato nella cella C, nella cella S la capacità di interrimento diminuiva col procedere dell'esposizione al toluene, fino al 45% di risposte positive sul totale di individui campionati al termine del test cronico.

Osmia cornuta e Megachile rotundata

Queste due specie hanno fornito le seguenti risposte ai parametri considerati:

- mortalità: le osmie si sono rivelate più sensibili delle megachili all'inquinamento atmosferico da toluene. Infatti, mentre nella cella di controllo gli Apoidei non mostravano alcun danno, nella cella S si è notata una diminuzione del numero di individui sia di osmie che di megachili; queste ultime, tuttavia, hanno fatto registrare una mortalità inferiore a quella delle osmie. I picchi maggiori di mortalità si sono

verificati durante l'undicesimo e il diciannovesimo giorno, in concomitanza con le simulazioni di pioggia;

- attività di bottinatura, valutata qualitativamente. Nella cella S gli apoidei hanno proseguito nell'attività di raccolta, seppur con ritmo via via più lento fino al termine della prova; nella cella C invece si è registrata una continua attività di raccolta;
- utilizzo di nidi artificiali da parte dei megachilidi: nella cella C si rilevavano visite di osmie ai nidi fino alla fine della prova; le megachili si introducevano talvolta sotto i nidi medesimi; nella cella A invece, dopo i primi tre giorni, le osmie non hanno più visitato i nidi, posandosi disordinatamente all'interno del microcosmo; al contrario, per le megachili non si sono riscontrate significative alterazioni del comportamento rispetto ai controlli.

Figura 3 - Sopravvivenza [R12] delle specie saggiate durante il test di tossicità cronica con toluene, considerando anche quelle presenti nell'ambiente acquatico

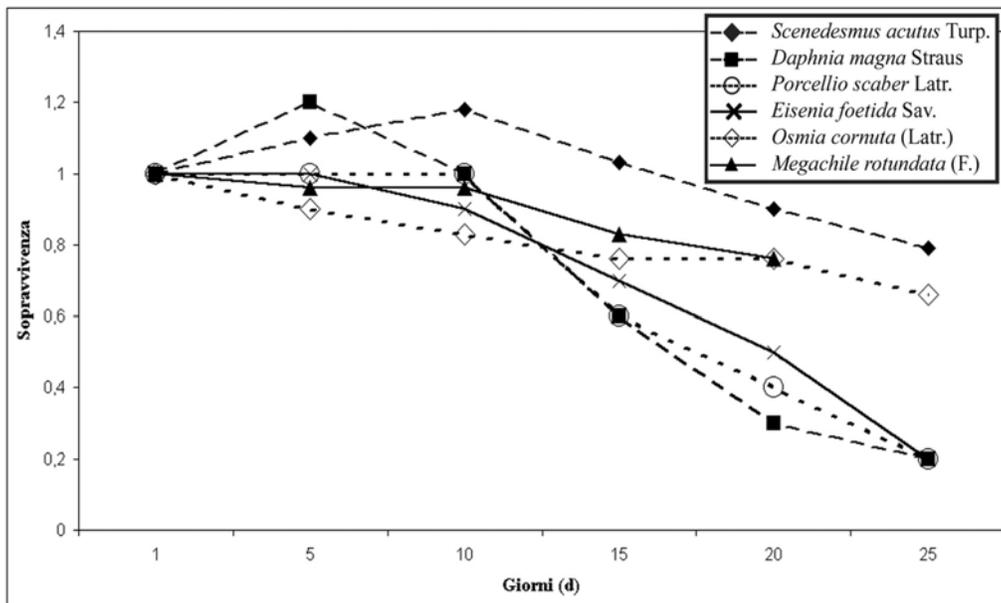
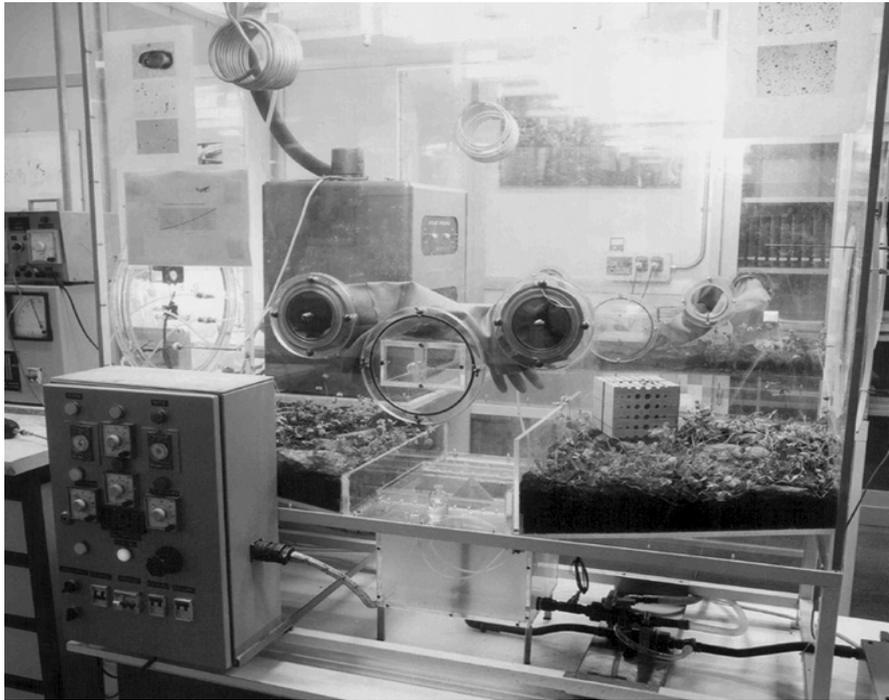


Figura 4 - Cella di saggio, allestita con gli ecosistemi terrestre e acquatico e nidi pedotrofici per gli apoidei, durante lo svolgimento del test cronico con toluene



4. DISCUSSIONE

Questo studio ha portato alla messa a punto e alla sperimentazione di uno strumento di ricerca atto ad accogliere organismi e modelli di ecosistemi, seppur artificiali e semplificati, di cui è possibile valutare le risposte all'esposizione a sostanze tossiche in condizioni rigidamente controllate.

Impatto del toluene

L'idrocarburo saggiato ha mostrato tossicità acuta nei confronti di tutti gli organismi saggiati.

In Italia il toluene non è al momento inserito tra gli indicatori utilizzati per la valutazione della qualità dell'aria. La concentrazione necessaria a definire la LC_{50} è stata comunque assai superiore ai valori medi di presenza nell'aria (1-40 ppm) indicati dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO, 2000) e inferiori ai valori limite in ambiente lavorativo indicati da diversi enti americani, tra cui l'American Industrial Hygiene Association (50 ppm), l'American Conference of Governmental and Industrial Hygienist (50 ppm) e il National Institute of Occupational Safety and Health (99 ppm), (U.S. Department of Health and Human Services, 1993).

Le prove di tossicità cronica hanno causato effetti letali sulle varie specie, anche a valori vicini a quelli ammessi dalle summenzionate normative. Emerge quindi la pericolosità di livelli costanti, seppure non elevati, di toluene nei vari comparti della biosfera.

E' importante notare che i valori di LC_{50} riferiti a *Porcellio scaber* ed *Eisenia foetida* sono stati molto più elevati rispetto a quelli registrati per *Daphnia* e *Scenedesmus*

(figura 3; tabella 1; Elia, 2000); tale risultato si spiega considerando il potere adsorbente e tampone del suolo (Goldberg, 1994), che riduce gli effetti dell'inquinante sugli organismi che lo popolano.

L'effetto letale è stato molto rapido sugli apoidei; ciò è probabilmente da riferire al fatto che questi insetti, soprattutto durante il volo, vengono direttamente e immediatamente a contatto con gli inquinanti gassosi.

5. CONSIDERAZIONI SULL'IMPIEGO DEL MICROCOSMO

Gli ambienti confinati e controllati impiegati come microcosmi hanno risposto in maniera soddisfacente ai presupposti stabiliti per il loro impiego:

- hanno permesso un monitoraggio costante degli organismi presenti nelle varie matrici, anche se richiedono opportuni accorgimenti, in particolare nel campionamento delle specie edafiche, per non danneggiare la copertura vegetale;
- hanno consentito la prevista diffusione e persistenza delle sostanze da saggiare;
- hanno consentito il raggiungimento di un grado di sicurezza adeguato, tale da garantire il corretto svolgimento di tutti i test necessari evitando i rischi da contaminazione dell'ambiente interno o di intossicazione di quello esterno.

Le due celle del "Progetto Geotrone" si sono rivelate validi strumenti per la ricerca ecotossicologica in quanto strutture capaci di contenere sistemi in grado di sostenersi nel tempo; ne costituisce una prova l'adattamento dei vari organismi nella cella usata come controllo, in cui si è rilevato, per le specie con ciclo breve come *S. acutus* e *D. magna* e per quelle a riproduzione continua come *P. scaber* ed *E. fetida*, addirittura un apprezzabile incremento della popolazione.

Le due celle del microcosmo si sono rivelate quindi validi strumenti per la ricerca ecotossicologica in quanto strutture capaci di sostenere sistemi perduranti nel tempo, come emerge dall'adattamento dei vari organismi nella cella usata come controllo, che ha consentito, per organismi del suolo e delle acque a ciclo breve, consistenti incrementi dell'abbondanza delle popolazioni.

6. CONSIDERAZIONI SUI BIOINDICATORI PRESI IN ESAME

Gli organismi introdotti nelle celle si sono dimostrati relativamente semplici da allevare e manipolare e molto validi come organismi saggio, capaci anche, come si è dimostrato in particolare per *P. scaber* e gli Apoidei Megachilidi, di fornire risposte comportamentali indicative dello stato di benessere o malessere, utili per valutare le reazioni ai vari agenti tossici con effetti subletali.

E. fetida, che nella prova di tossicità cronica ha fatto rilevare una mortalità più lenta rispetto a quella degli oniscidi, non si può ritenere un bioindicatore molto adatto per gli inquinanti gassosi; *T. repens* si è invece confermato specie valida come bioindicatore (Fumagalli *et al.*, 1997; Hebesein *et al.*, 1997).

Bibliografia

- Badino G., Ferrazzi P., Elia E., 2000. *Engine emission impact on a microcosm community*. X Congr. Naz. Soc. It. Ecologia, Pisa 14-16 settembre 2000: 84.
- Beyers R. J, Odum H. T., 1993. *Ecological microcosms*. Springer Verlag, 557 pp.
- Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy. *Official Journal of European Communities* L 327, 22.12.2000: 1-72.

- Elia E., 2000. *Impatto di emissioni motoristiche su organismi allevati in ecotroni*. Tesi di laurea realizzata presso la Facoltà di Agraria dell'Università di Torino, anno accademico 1998-99.
- Fumagalli I., Mignanego L., Violini G., 1997. Effects of tropospheric ozone on white clover plants exposed in open-top chamber or protected by the antioxidant ethylenediamine. *Agronomie*, 17(5): 271-281.
- Goldberg L.F., 1994. Inquinamento del suolo. In: Marchetti R. (eds.), *Ecologia applicata*. Cittàstudi, Milano: 617-635.
- Gorbi G., Corradi M.G., 1993. Chromium toxicity on two linked trophic levels. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 25: 64-71.
- Hebesen T., Luscher A., Nosberger J., 1997. Effects of elevated atmospheric CO₂ and nitrogen fertilization on yield of *Trifolium repens* and *Lolium perenne*. *Acta Oecologica*, 18(3): 149-160.
- Hudlicky T., Gonzalez D., Gibson D.T., 1999. Enzymatic dihydroxylation of aromatics in enantioselective synthesis: expanding asymmetric methodology. *Aldrichimica Acta*, 32(2): 35-62
- Lawton J. H., Naeem S., Woodfin R.M., Brown V.K., Gange A., Godfray J. C., Heads P. A., Lawler S., Magda D., Thomas C. D., Thompson L.J., Young S. 1995. The Ecotron: a controlled environmental facility for the investigation of population and ecosystem processes. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, 1993, 341: 181-194.
- Longhi S., 1995. *Valutazione preliminare sulla potenziale introduzione di Porcellio scaber in una batteria di test di tossicità sulle biocenosi di ambiente terrestre*. Tesi di laurea realizzata presso la Facoltà di Scienze M Tesi di laurea realizzata presso la Facoltà di Agraria dell'Università di Torino, anno accademico atematiche, Fisiche e Naturali dell'Università di Varese, anno accademico 1994-95.
- Marchetti R., 1994. *Ecologia applicata*. Cittàstudi, Milano, 1055 pp.
- Pinzauti M., Rondinini T., 1991. Il servizio di impollinazione. *L'Italia Agricola*, 128 (1): 177-184.
- Pratt J. R., Bowers N. G., 1990. A microcosm procedure for estimating ecological effects of chemical and mixtures. *Toxic assess* 5 (2): 189-205.
- U.S. Department of Health and Human Services, 1993. *Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (RTECS, online database)*. National Toxicology Information program, National Library of Medicine, Bethesda, MD.
- Van Straalen N. M., Denneman C. A. J., 1989. Ecotoxicological evaluation of soil quality criteria. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 18: 241-251.
- WHO - World Health Organization, 2000. *Air quality Guidelines for Europe (online database)*. WHO Regional Publication, Geneva.

IMPORTANZA DEI TEST ECOTOSSICOLOGICI NELL'AMBITO DELL'ANALISI DEL RISCHIO ECOLOGICO (ERA)

Bona Griselli

Arpa Piemonte

I test ecotossicologici rappresentano uno strumento d'indagine delle matrici ambientali che si va via via sempre più affermando, in quanto consentono di definire gli effetti derivanti dalle interazioni dei vari contaminanti, nonché la loro biodisponibilità.

Le principali applicazioni di questi test da parte delle Agenzie per l'Ambiente riguardano essenzialmente indagini *routinarie* delle matrici liquide con particolare riferimento agli effluenti, in quanto il loro impiego è contemplato dal D. Lgs. 152/99.

Recentemente è emersa la consapevolezza e l'esigenza di approfondire le sperimentazioni di questi test sulla matrice suolo ed un notevole impulso è stato fornito dal ruolo importante che è stato loro assegnato nelle Analisi di Rischio Ecologico (ERA) associate ai siti contaminati.

I siti contaminati a causa dell'elevato impatto che hanno sulla salute pubblica ed ambientale, occupano infatti una posizione di primo piano fra le tematiche ambientali. Le implicazioni politiche, economiche e sociali che la gestione di questi siti comporta sono di estrema rilevanza.

Le attuali tendenze della comunità scientifica internazionale sono quelle di definire un'Analisi di Rischio Ecologico (ERA) per i siti contaminati che si basa su uno schema generale comune.

Il D.M. 471/99 (*Regolamento recante criteri, procedure e modalità per la messa in sicurezza, la bonifica e il ripristino ambientale dei siti inquinati, ai sensi dell'Art. 17 del D. Lgs. 5/2/97, n. 22, e successive modifiche e interazioni*) impone infatti delle valutazioni non solo mirate alla salute umana, ma anche all'ambiente, tuttavia non fornisce indicazioni su come condurre un'analisi di rischio ecologico.

L'ANPA nel 2002, in particolare il Dipartimento Rischio Tecnologico e Naturale, ha elaborato un rapporto avvalendosi della collaborazione del Dipartimento di Scienze Ambientali dell'Università Cà Foscari di Venezia : "*Analisi di Rischio ecologico per il risanamento dei siti contaminati. Quadro internazionale e sviluppo di Linee Guida in ambito nazionale*", che presenta un'approfondita analisi dei modelli di ERA in uso presso vari paesi Europei ed una proposta di ERA adattata alla realtà ambientale italiana e alla normativa vigente.

L'elaborazione di questa proposta rappresenta quindi un importante punto di riferimento per le prime sperimentazioni in Italia di analisi di rischio ecologico dei siti contaminati, in quanto gli strumenti attualmente a disposizione sono limitati agli aspetti sanitari ed alla protezione delle risorse idriche.

Lo schema logico proposto prevede 3 differenti livelli di indagine:

- 1) *scoping*
- 2) *screening*
- 3) approfondimento sito-specifico

I test ecotossicologici possono essere adottati, se necessario, nella fase di screening, nel caso in cui non siano sufficienti i dati reperibili in letteratura e dai *data base* tossicologici e sono indispensabili nel terzo livello di approfondimento sito-specifico.

La fase di *scoping* è caratterizzata dalla raccolta ed organizzazione di tutte le informazioni e dei dati esistenti. Si prevede la compilazione di *checklist* opportunamente predisposte, per poter arrivare ad una preliminare descrizione dell'ecosistema indagato e del suo grado di esposizione ai contaminanti. Il risultato di questa fase è rappresentato dalla definizione di un preliminare modello concettuale dell'ecosistema che consente di selezionare dei criteri ecologici e dei valori ambientali che lo caratterizzano.

Su questi criteri ecologici e valori ambientali verranno impostate le due fasi successive.

Obiettivo della fase di *screening* è di definire se esiste un potenziale rischio rilevante per l'ambiente, in funzione della sua destinazione d'uso e di valutare la necessità di condurre un'ERA sito specifica di approfondimento. La procedura proposta trae spunto da quella spagnola (INIA, 2000) e da studi sviluppati in Olanda.

Vengono definite le varie funzionalità del suolo che si intende preservare in relazione alla destinazione d'uso.

Il D.M. 471/99 prevede due destinazioni d'uso: 1) commerciale e industriale, 2) residenziale, verde pubblico e privato. Ai fini di un'analisi di rischio ecologico sono state incluse altre due destinazioni d'uso: aree naturali e aree agricole.

Ad ogni funzionalità vengono associati criteri ecologici e valori ambientali da proteggere (*assessment endpoints*), riferiti a differenti categorie tassonomiche di ricettori (microrganismi del suolo, fauna edafica, piante, vertebrati terrestri, organismi acquatici associati).

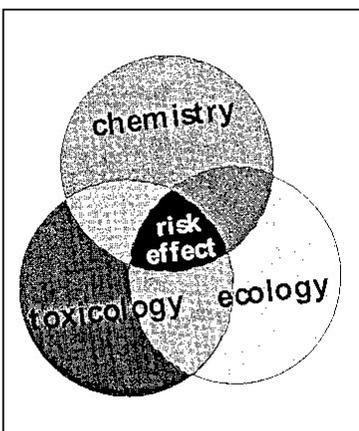
Per ognuno di questi *assessment endpoints* devono essere determinati, mediante ricerca bibliografica o mediante dati sperimentali, dei parametri ecotossicologici di interesse: NOEC, LOEC, EC_x, LC_x.

Questi parametri consentono di arrivare alla definizione dei *Soil Screening Values* (SSV) che definiscono la qualità minima del suolo richiesta per l'uso prefissato.

La definizione di questi valori avviene secondo procedure dettagliate che tengono in considerazione sia l'uso del suolo, sia fattori di incertezza (UF), che dipendono a loro volta dalla ricchezza del *database* di cui si dispone.

I criteri di assunzione di questi valori sono molto cautelativi. Il loro superamento indica la necessità di proseguire con il terzo livello d'indagine.

Nella fase di *approfondimento sito-specifica* l'impostazione che si intende seguire è in



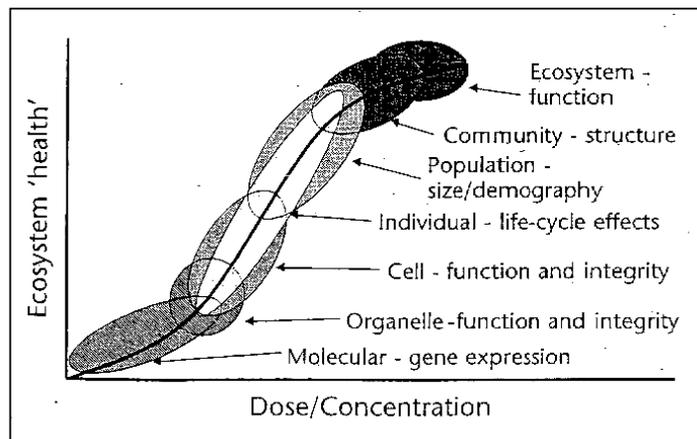
linea con il protocollo olandese che prevede un approccio TRIAD, che si basa sull'impiego simultaneo e integrato di informazioni derivanti da valutazioni chimiche, ecologiche e tossicologiche. Queste informazioni devono venire opportunamente pesate e integrate. Tale fase nelle Linee Guida è trattata ancora marginalmente ed è in corso di elaborazione ed approfondimento, in quanto estremamente complessa e delicata.

Per ognuna delle entità ecologiche da proteggere si devono individuare test ecotossicologici da utilizzare per una valutazione ottimale degli effetti ed una stima sito-specifica del rischio.

E' fondamentale, per acquisire informazioni significative, la scelta di una corretta batteria di organismi situati a differenti livelli trofici e complementari per quanto riguarda la sensibilità a differenti tipologie di inquinanti.

Nel selezionare i test ecotossicologici da applicare all'analisi dei suoli contaminati, è opportuno conoscerne gli attributi che li caratterizzano: riproducibilità (il test deve fornire risposte simili nei confronti dello stesso livello di contaminazione), rappresentatività (il test deve poter essere usato in un ampio range di siti potenzialmente contaminati per poter confrontare ambiti territoriali differenti, le popolazioni o le specie usate per il test devono essere presenti in ciascun sito), sensibilità (la risposta biologica deve essere misurabile dopo l'esposizione al contaminante e paragonata ai risultati di saggi condotti in suoli non contaminati), robustezza (il test deve essere utilizzabile con i suoli contaminati e non deve risentire di fattori ambientali non correlati all'inquinamento o al degrado ambientale), rilevanza ecologica (il test deve essere pertinente e fornire informazioni ecologicamente significative; essere in grado di descrivere effetti che si evidenziano ad elevati livelli di organizzazione come popolazione, comunità, ecosistema), praticità (facilità e velocità di esecuzione, esperienza richiesta, la facilità di interpretazione dei risultati, costi). Questi criteri sono talvolta tra loro in conflitto.

I test biologici possono essere effettuati a differenti livelli di organizzazione (molecolare, individuo, popolazione, comunità, ecosistema). I metodi che da un lato risultano più sensibili alle concentrazioni di un composto chimico (es. espressione genica) sono da un altro i più deboli nel fornire informazioni sullo stato di salute dell'ecosistema ((Kammenga 2000).



Kammenga,20

Questo significa che se un test è molto sensibile è poco rilevante e viceversa. La scelta di un organismo da utilizzare in un test tossicologico deve inoltre rispondere a requisiti di compatibilità con la matrice da testare. L'organismo deve presentare caratteristiche tali da poter sopravvivere nella matrice stessa, che dovrà avere determinati requisiti ad es. esempio pH, grado di idratazione, contenuto in elementi nutrizionali tali da garantirne la sopravvivenza. Per una iniziale stima della tossicità del sito, si possono adottare test di tossicità acuta che contemplano eventualmente anche l'utilizzo di organismi non peculiari della matrice indagata; per un più elevato livello di approfondimento è necessaria l'adozione

di organismi rappresentativi della struttura o funzione ecologica che si intende monitorare. L'indigenismo non è sempre strettamente indispensabile in quanto un organismo può surrogare e rappresentare anche gruppi sistematici molto vasti. I test cronici, che evidenziano effetti subletali, come alterazioni nell'accrescimento, attività riproduttiva, maturazione, hanno maggiore rilevanza nell'ERA sito-specifica.

E' molto importante avvalersi di protocolli standardizzati (ISO, OECD ecc..) per l'affidabilità dei test, nella selezione di test è inoltre opportuno non scartare a priori procedure non ancora standardizzate ed in via di sperimentazione (es. test cronico con *Heterocypris incongruens*), le quali sembrano promettenti e potrebbero concretamente essere incluse in una batteria di *bioassays* da utilizzare nell'ERA.

E' opportuno selezionare organismi rappresentativi di differenti gruppi tassonomici, considerando: batteri, semi, piante, crostacei, invertebrati del suolo.

In alcuni laboratori dell'Arpa Piemonte sono state effettuate e sono tutt'ora in corso sperimentazioni con: 1) suoli standard contaminati con tossici di riferimento, 2) campioni provenienti dal sito contaminato ACNA di Cengio prelevati in punti a differenti livelli di contaminazione, unitamente a suoli di riferimento di provenienza dall'area di studio.

Bisogna infine tenere presente che l'Analisi di Rischio Ecologico può essere applicata in tutte le tre fasi previste dal processo di risanamento dei siti contaminati: 1) caratterizzazione, 2) progettazione di interventi, 3) progettazione del monitoraggio ecologico prima e dopo l'intervento di risanamento.

Bibliografia

- ANPA 2000. *Analisi di Rischio Ecologico per il risanamento dei siti contaminati. Quadro internazionale e sviluppo di linee guida in ambito nazionale* 1/2002, 105 pp.
- ENVIRONMENT AGENCY UK 2002. *Review of sublethal ecotoxicological tests for measuring harm in terrestrial ecosystems EA 2002*, 192 pp.
- INIA 2000. Instituto National de Investigation y tecnologia Agraria y alimentaria. *Desarrollo de criterios para la caracterizacion de suelos contaminados y para determinar umbrales para la proteccion de los ecosistemas*. Madrid, Spagna.
- KAMMENGA J., 2000. *Potential and limitations of soil invertebrate biomarkers : final report of the EU BIOPRINT field project*, At SETAC Europe 11th Annual Meeting, Madrid.
- RUTGERS M., FABER J., POSTMA J., EIJSACKERS H. 2000. *Site-specific ecological risk: a basic approach to function-specific assessment of soil pollution. The Netherland Integrated Soil Research Programme Report*, Vol.28, RIVM, Aquasense, Alterra.

APPLICAZIONE DI TEST DI FITOTOSSICITÀ AI SUOLI DELLA VALLE BORMIDA

Maurizio Battezzatore, Simona Caddeo, Patrizia Cometto, Enrico Gastaldi, Lorenzo Giordano

Arpa Piemonte Dipartimento di Cuneo

La conoscenza dello stato ambientale di una determinata matrice non può prescindere dall'utilizzo di indicatori di tipo biologico ed ecotossicologico, inoltre, l'elevato numero di sostanze chimiche potenzialmente inquinanti e le possibili interazioni tra di esse rendono impossibile una caratterizzazione completa dal punto di vista ambientale con il solo ausilio dell'analisi chimica.

In questo studio, per affiancare le analisi chimico-analitiche e geotecniche, è stata utilizzata una metodologia di indagine relativamente recente (saggio di fitotossicità), al fine di ottenere un quadro degli effetti, e non solo delle cause, del danno ambientale derivante dai decenni di inquinamento ambientale associato all'attività della ex Acna di Cengio (SV).

Gli effetti rilevati sono le alterazioni funzionali arrecate a tre specie di piante vascolari dall'esposizione a campioni di suolo provenienti da diversi siti della vallata. Inoltre, utilizzando lo strumento ToxY-PAM, è stato effettuato un saggio per valutare l'effetto tossico sul metabolismo della clorofilla contenuta in materiali fotosinteticamente attivi da parte di campioni ambientali a diverso grado di contaminazione.

Il campionamento è stato effettuato tra Ottobre e Dicembre 2002; sono stati prelevati campioni di suolo da 54 differenti siti in un'area che comprende 14 Comuni lungo la valle Bormida, sia "a monte" sia "a valle" dello stabilimento ex Acna (Figura 1).

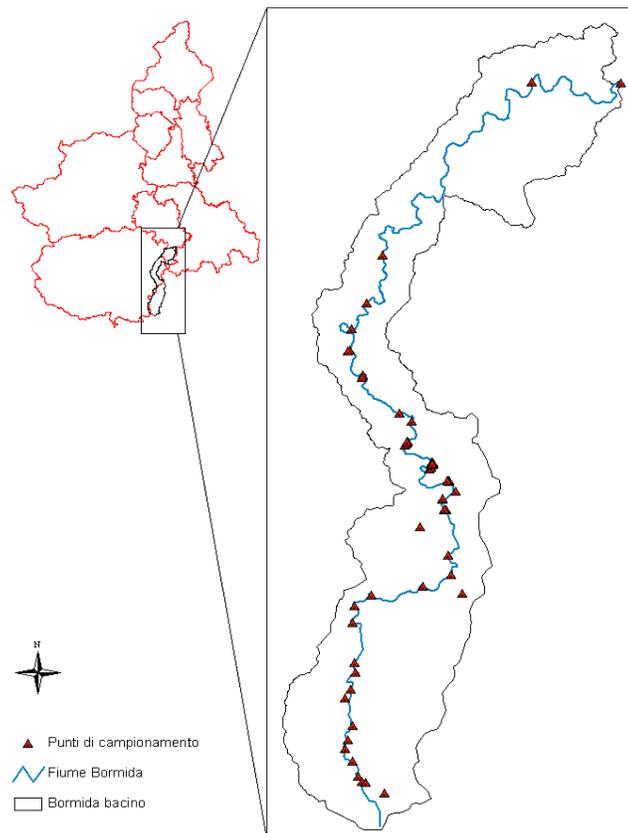


Figura 1 - Mappa dei 54 siti di campionamento lungo il bacino del fiume Bormida

Per ogni sito è stata scavata una trincea (Figura 2) e sono stati prelevati due campioni di suolo, uno superficiale a circa 15 centimetri (strato biologicamente attivo) e uno a circa 2 metri a contatto della roccia madre.

Figura 2 - Scavo della trincea di campionamento



1. METODOLOGIA ADOTTATA

Test di fitotossicità

Il saggio di fitotossicità (*UNICHIM metodo n. 1651/2003*) si basa sull'uso di semi di diverse specie vegetali per valutare la potenziale tossicità di campioni liquidi (acque superficiali, effluenti) o solidi (suoli, sedimenti, fanghi di depurazione, compost), prendendo in considerazione la germinazione e l'allungamento radicale.

Sono stati utilizzati i semi di due dicotiledoni, cetriolo (*Cucumis sativus*) e crescione (*Lepidum sativum*) e di una monocotiledone, sorgo (*Sorghum saccharatum*), che sono stati messi a contatto del campione in capsule Petri, chiusi in sacchetti di plastica ed incubati al buio alla temperatura di 25 ± 2 °C per 72 ore. Al termine dell'esposizione, sono stati contati i semi germinati e misurata la lunghezza dell'apparato radicale con un righello.

Da questi dati è stato calcolato l'**indice di germinazione percentuale** (%IG) e la **percentuale di inibizione dell'allungamento radicale** (% Inib.):

$$\%IG = \frac{G_1 L_1}{G_c L_c} 100 \qquad \% Inib. = \frac{L_c - L_1}{L_c} 100$$

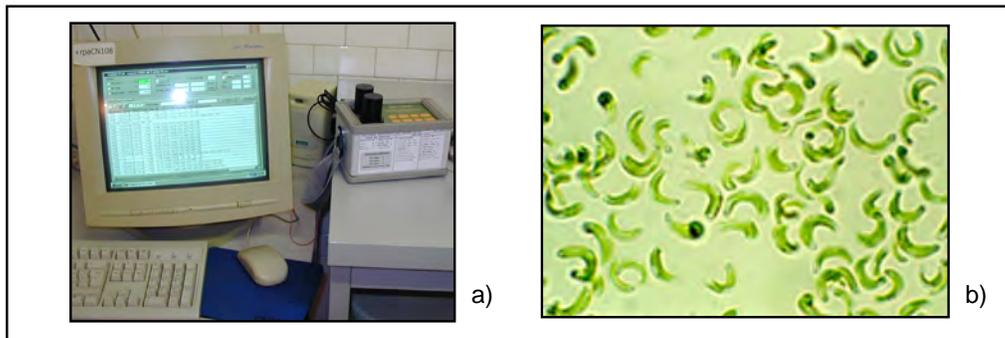
dove G_1 è il numero di semi germinati nel campione; G_c quello dei semi germinati nel controllo; L_1 è la lunghezza radicale in mm nel campione; L_c quella nel controllo.

Prima dell'esecuzione del saggio di fitotossicità ciascun campione di suolo è stato setacciato con un setaccio a maglie di 2 mm e ne sono state calcolate la percentuale di Umidità (% U) e la percentuale di Capacità di Ritenzione Idrica (% CRI), utilizzando lo strumento "Misture Analyzer HR73" secondo le istruzioni del costruttore (*METTLER TOLEDO, 2001*).

Test di Inibizione fotosintetica

Per il saggio di Inibizione fotosintetica è stato utilizzato lo strumento ToxY-PAM (Heinz Walz, 2001 – Figura 3a) per la determinazione dell'effetto di piccole quantità di sostanze tossiche in campioni liquidi in termini di inibizione dell'attività fotosintetica clorofilliana, utilizzando matrici standardizzate come sospensioni di alghe, protoplasti, cloroplasti isolati, tilacoidi e frazioni di membrane tilacoidali (in questo caso sospensioni algali della specie *Pseudokirchneriella subcapitata* – Figura 3b).

Figura 3 - a) ToxY-PAM collegato al PC; b) Sospensione algale di *Pseudokirchneriella subcapitata*



Lo strumento è costituito da due canali, uno contiene il materiale fotosinteticamente attivo sospeso con il campione liquido da analizzare, l'altro contiene l'identico materiale fotosinteticamente attivo sospeso nel controllo. Viene poi fatto passare un fascio di luce intensa di cui si confronta il grado di assorbimento da parte delle alghe nei due campioni.

La misura della fluorescenza è molto sensibile e la concentrazione della clorofilla dovrebbe essere abbastanza bassa ($\leq 1 \mu\text{g/ml}$); i campioni devono essere diluiti fino ad ottenere un segnale di fluorescenza dell'ordine di 1000-1500 nm. Per effettuare il test con lo strumento ToxY-PAM, i campioni di suolo, setacciati, sono stati diluiti con acqua ultrapura (1:4), posti sotto agitazione per 30 minuti e lasciati riposare una notte in frigorifero. I campioni sono poi stati centrifugati (10 minuti a 3000 giri) e il surnatante è stato filtrato (filtri con membrane da $0.45 \mu\text{m}$). Per il saggio sono stati utilizzati $150 \mu\text{l}$ di sospensione algale messi in sospensione in 2 ml di controllo o di campione da saggiare nelle cuvette. I risultati sono espressi come Inibizione percentuale alla fotosintesi clorofilliana (%).

2. RISULTATI E CONCLUSIONI

Tra i 20 siti a monte dello stabilimento ex Acna, come bianco di riferimento (sia per lo strato superficiale che per quello profondo), è stato individuato un punto situato nel comune di Calizzano, scelto perché risultato il meno "impattato" ed il meno tossico nei test sui tre semi esaminati, anche in confronto con saggi su acqua purificata usata come controllo.

Tra le specie di piante da seme saggiate, è possibile ipotizzare che il sorgo risponda maggiormente rispetto al cetriolo e al crescione nell'individuare punti critici di tossicità nel suolo, in particolare a valle dello stabilimento ex-Acna. Ciò è testimoniato anche dal confronto fra numero medio di semi germinati per le 3 specie saggiate le quali hanno

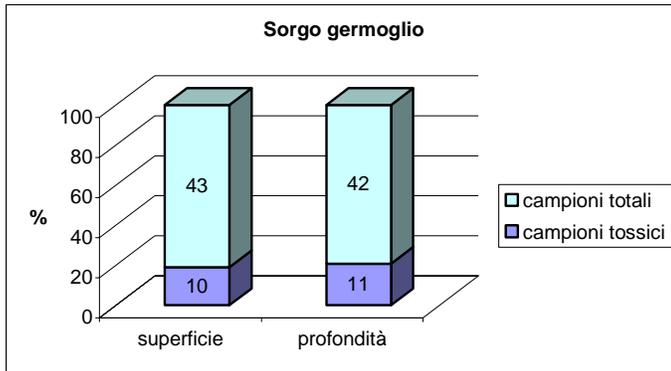
dato risposte diverse tra di loro in termini sia di *Indice di Germinazione %* che di *Inibizione all'allungamento*.

Pur non essendo rilevabili differenze particolarmente significative, si può dire che in generale il sorgo (radici e germogli) tende ad avere indici di germinazione più bassi, mentre per la crescita ed il cetriolo risultano relativamente più alti. Pertanto, per il parametro "germinazione" il sorgo ha dimostrato di essere relativamente più sensibile alla tossicità esercitata dai campioni di suolo saggiati.

Osservando i dati riguardanti la percentuale di *inibizione all'allungamento*, è emersa una maggiore sensibilità del sorgo, soprattutto del germoglio, nel quale circa il 20% dei campioni di suolo ha dato una percentuale di *inibizione all'allungamento* superiore a 50, sia nello strato superficiale che in quello profondo (Figura 4).

Per quanto riguarda la radice del sorgo, circa il 9.5% di campioni di suolo dello strato profondo ha una percentuale di inibizione all'allungamento superiore al 50%.

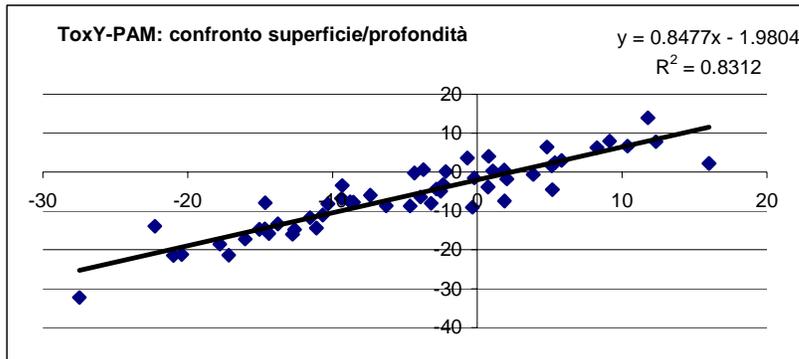
Figura 4 - Inibizione all'allungamento germogliare (%) nei campioni saggiati con il sorgo



Tra i campioni che hanno mostrato una tendenza a valori di inibizione all'allungamento relativamente elevati in tutti i saggi eseguiti ci sono una stazione di Bardineto, una di Calizzano e una di Roccavignale nei campioni superficiali; per quanto riguarda lo strato profondo, invece, si evidenziano una stazione di Bardineto ed una di Roccavignale.

Diversamente dai saggi di fitotossicità su piante da seme, i saggi di *inibizione fotosintetica* su sospensioni algali effettuati con lo strumento ToxY-PAM hanno evidenziato un notevole grado di coerenza tra i risultati dei campioni superficiali e quelli dei campioni profondi, come evidenziato in figura 5.

Figura 5 - Regressione: confronto dei valori di % di Inibizione fotosintetica tra superficie e profondità



La spiegazione di ciò può risiedere nelle diverse sostanze presenti in questi due strati, per il ToxY-PAM la profondità incide molto meno sul risultato. Nel merito delle differenze fra campioni, il saggio di inibizione fotosintetica ha evidenziato come una parte dei campioni di Cengio e quasi tutti i campioni di Saliceto siano risultati caratterizzati da un effetto inibente più marcato degli altri.

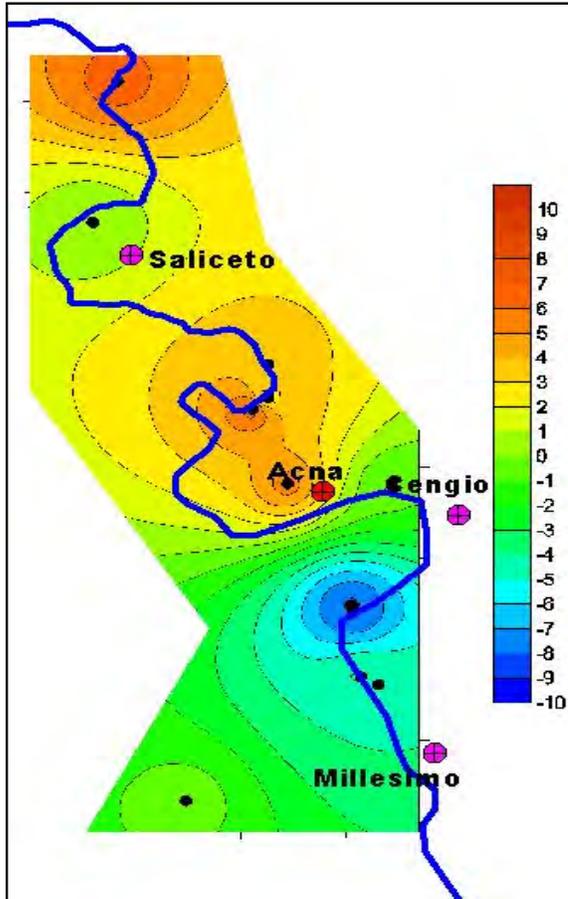
Pertanto, il saggio di inibizione fotosintetica appare aver distinto più degli altri i campioni posti nelle immediate vicinanze – quindi presumibilmente più soggetti all'influenza - dello stabilimento ex-Acna.

Si è ipotizzata una correlazione tra la distanza (in metri) dallo stabilimento ex-Acna dei siti campionati e i valori di inibizione ottenuti con il ToxY-PAM; a tal proposito, si sono calcolati il coefficiente di correlazione e la regressione tra questi due parametri sia per lo strato superficiale che per quello profondo.

I coefficienti di correlazione, caratterizzati da un livello di significatività dell'1%, sono risultati relativamente alti (-0.56 in superficie e -0.57 in profondità) e di segno negativo, che indica l'aumento di una variabile (per es. la distanza) col diminuire dell'altra (per es. l'inibizione). L'analisi della regressione ha invece fornito risultati abbastanza bassi sia per campioni superficiali che per campioni profondi, quindi poco significativi.

Al fine di avere una visualizzazione sulla mappa dei dati si è optato per una rappresentazione per interpolazione spaziale (metodo *Inverse Distance to a Power*) secondo il programma SURFER (Golden Associates, 1999).

Figura 6 - Rappresentazione dei dati di % di Inibizione fotosintetica mediante interpolazione (strato profondo)



Nella figura 6 si osserva l'interpolazione spaziale dei valori di inibizione misurati col ToxY-PAM per i campioni dello strato profondo; i dati si riferiscono ai punti campionati entro un intorno di ca. 6 km attorno allo stabilimento ex-Acna, considerando i valori medi di inibizione fotosintetica per gruppi di punti vicini. Questo ha permesso di evidenziare come il saggio di Inibizione fotosintetica sia stato utile nel distinguere le situazioni a valle e vicine all'Acna dagli altri siti, più a monte e lontani. I risultati completi di tutti i rilevamenti effettuati sono stati riportati in una relazione (*Battegazzore e Gastaldi, 2003*).

In conclusione, si può affermare che tutti i saggi utilizzati hanno evidenziato un'ampia gamma di risposte ai campioni di suolo e sembrano idonei per una applicazione anche ad altre situazioni.

Fra i saggi di fitotossicità, il sorgo sembra comunque aver fornito una risposta più sensibile, mentre il saggio di inibizione fotosintetica ha mostrato come i suoli più vicini al sito ex-Acna fossero tendenzialmente quelli con effetto tossico maggiore.



In futuro dovrebbero essere proseguiti i saggi su aree più ridotte e potrebbero essere fatti confronti mirati fra dati ecotossicologici e i dati chimico-analitici prodotti dall'Arpa Dipartimento di Alessandria (Dott. Cossa).

Ringraziamento - Gli autori esprimono un ringraziamento particolare alla Dott.ssa Luisella Bardi dell'Arpa, Dipartimento di Cuneo per le interpolazioni spaziali.

Bibliografia

- ARPA Piemonte, 2003. Studio della fitotossicità dei suoli della Valle Bormida (Progetto 01CZH) a cura di Battezzatore M. e Gastaldi E., 45 pp.
- Golden Software inc., 1999. SURFER (Surface Mapping System), v.7.00.
- Heinz Walz GmbH, Dual-Channel PHOTOSYNTHESIS YIELD ANALYZER ToxY-PAM Manual, 2001.
- METTLER TOLEDO GmbH, Istruzioni d'uso Misture Analyzer HR73, 2001.
- UNICHIM Metodo n. 1651/2003, Qualità dell'acqua, Determinazione dell'inibizione della germinazione e allungamento radicale in *Cucumis sativus* L. (Cetriolo), *Lepidium sativum* L. (Crescione), *Sorghum saccharatum* Moench (Sorgo), (saggio di tossicità cronica breve).

I COLEOTTERI GEOADEFAGI NELLA VALUTAZIONE DEL PREGIO NATURALISTICO DEL TERRITORIO

Pietro Brandmayr, Roberto Pizzolotto, Antonio Mazzei, Maria Sapia

Dipartimento di Ecologia dell'Università della Calabria

I coleotteri geodefagi, intesi nell'accezione tassonomica più comune (Carabidae, includenti i Cicindelinae) sono oggi di largo uso come indicatori dello stato dell'ambiente, sia che per esso si intenda l'ambiente naturale non o poco alterato dall'uomo, sia nel senso di ambiente modificato o degradato da specifici interventi umani quali possono essere la messa a coltura, l'urbanizzazione, l'inquinamento (Brandmayr, 1994).

I Coleotteri Carabidi, con un numero di specie particolarmente elevato (circa 33.000 quelle note: Lorenz, 1998), sono un gruppo di insetti che vive a livello del suolo. Questa ricchezza di specie è il risultato di una grande radiazione adattativa come predatori terrestri, che li ha portati ad occupare gli ambienti più diversificati (Vigna Taglianti, et al., 2001). Sono inoltre ampiamente documentate (Thiele, 1977) le relazioni fra numerose specie ed i principali fattori biotici ed abiotici che caratterizzano gli ambienti in cui vivono.

Le conoscenze acquisite a livello tassonomico-faunistico, sia nazionale che internazionale, la elevata fedeltà ambientale e la tendenza ad endemizzare, sono tutte caratteristiche che fanno considerare i Coleotteri Carabidi come validi indicatori ecologici, in grado di reagire in modo leggibile alle perturbazioni ambientali, anche riflettendo le risposte di altri taxa o della biodiversità complessiva.

Ad esempio in una successione ecologica che vede contrapposti da una parte ecosistemi-climax poco alterati e dall'altra ecosistemi perturbati o antropizzati, dove si assiste al fenomeno più o meno inteso della "human disturbance", anche le entomocenosi subiscono profondissimi mutamenti qualitativi e quantitativi (Niemelä e Kotze 2000). E così possibile distinguere anche per gli insetti un "popolamento potenziale" proprio cioè di condizioni teoricamente indisturbate, da contrapporre a quelli "reali", secondari, indotti dall'attività umana, tra i quali è possibile distinguere diversi gradi di alterazione, degrado e sostituzione rispetto alla cenosi di partenza (Brandmayr, 1990).

Al fine di chiarire gli aspetti storici ed attuali dei popolamenti a geodefagi (Brandmayr, 1983), si effettuano campionamenti in modo automatico, cioè tramite trappole a caduta, metodologia che permette di ricavare indagini condotte sia a livello "puntiforme" del biotopo, sia su scala ecologica più ampia, ed ottenendo informazioni di tipo quantitativo e qualitativo. È proprio dalle informazioni qualitative che si ottengono parametri utili ai fini di una valutazione della naturalità o della "spontaneità" del popolamento. Infatti l'aspetto qualitativo si riferisce ad un insieme di caratteristiche biologiche o "bionomiche", che vanno ad identificare la "qualità" delle specie, che nel gioco dei cambiamenti ambientali operati dall'uomo può dimostrarsi più o meno sensibile.

In questo senso, la qualità intesa in termini evolutivo-adattativi permette di essere valutata e rappresentata numericamente come **stima del pregio naturalistico** di una

specie o di un gruppo di specie caratterizzanti un determinato ambiente (Pizzolotto, 1994).

Per quanto riguarda i Coleotteri Carabidi, le principali caratteristiche biologiche o "parametri tipologici (Niemelä e Kotze 2000) o taxon-indipendenti a cui fare riferimento sono il potere di dispersione (anche della comunità, statisticamente soppesato), relazionato allo stato dell'ecosistema climax; Corologia e situazione dell'areale, importanza all'endemismo; scelta e specializzazione alimentare (specie onnivore o generaliste si addensano in ambienti antropizzati); fenologia e ritmo riproduttivo; inoltre l'approccio classico alla biodiversità considerata come numero di specie o indici a contenuto informativo (Brandmayr & Pizzolotto, 1994). Il calcolo del pregio faunistico avviene tramite semplici operazioni matematiche, e fornisce un criterio di aiuto per dare una risposta alla domanda "quali tra questi ambienti/ comunità/ biotopi/ necessita di essere conservato/ valorizzato/ recuperato?".

Nel seguito si espone in modo sintetico un esempio delle conseguenze dell'impatto antropico su di un paesaggio mediterraneo calabrese, impatto che viene letto e valutato attraverso le carabidocenosi. Abbiamo ricostruito un gradiente ideale di crescente importanza dell'impatto antropico, prendendo in considerazione un paesaggio costituito da un mosaico di: bosco climax - rimboschimento con essenze naturali – rimboschimenti con essenze esotiche (Eucalipto) - coltivi abbandonati - coltivi - aree con suolo nudo (in conseguenza di incendi frequenti).

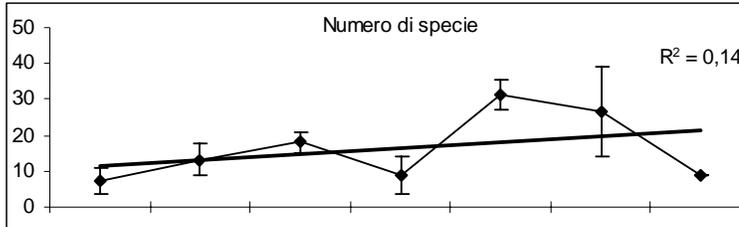
Orientando questo mosaico in un gradiente di antropizzazione crescente è possibile seguire la variazione di molti parametri dei popolamenti a geoadefagi. Nelle foreste prevalgono, ad esempio dimensioni maggiori ed elementi predatori specializzati, molti dei quali brachitteri e/o endemici (distribuzione appenninica più o meno estesa). Nei cespuglieti o nei pascoli le dimensioni diminuiscono, ma il numero di specie spesso aumenta. Nei biotopi antropizzati (coltivi) compaiono ulteriori elementi, sino al prevalere di vere e proprie specie "sinantropiche", la cui abbondanza è più o meno legata alla presenza dell'uomo.

Nella figura 1 è rappresentata una serie di grafici, che descrivono le risposte di parametri "tipologici" in conseguenza ai cambiamenti ambientali operati dalle attività antropiche. In ascissa, nei singoli grafici, è posta la predetta sequenza ambientale riordinandola in senso di degradazione crescente, in parentesi è riportato il numero delle stazioni di cui si è tenuto conto. Ogni punto dei grafici rappresenta, la media con relativa deviazione standard del relativo indice di riferimento.

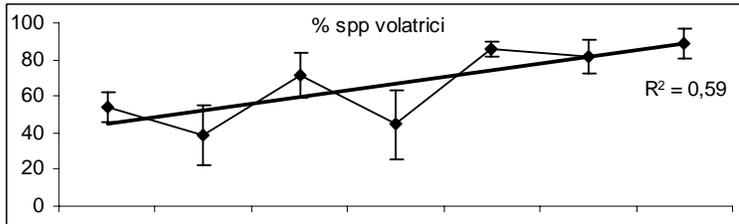
Nel grafico "specializzazione alimentare", l'ordinata rappresenta la percentuale di specie "oligofaghe", sul totale della cenosi. L'incidenza delle specie con regime alimentare specializzato presenta un caratteristico andamento decrescente, con elevati valori in ambienti forestali o prossimi al climax, valori bassi nei seminaturali o nulli in aree con forte impatto antropico, in cui si contrappone un aumento di quelle specie opportuniste. Come evidenziato nel grafico "opportunisti alimentari", in cui l'ordinata rappresenta la somma delle percentuali di specie "zoospermofaghe e spermofaghe" cioè con largo spettro alimentare. Il che conferma che un alta percentuale di specie polifaghe è un chiaro esempio di indice di degrado della comunità originaria.

Figura 1 - Risposta di alcuni parametri "tipologici" delle comunità di Coleotteri Carabidi

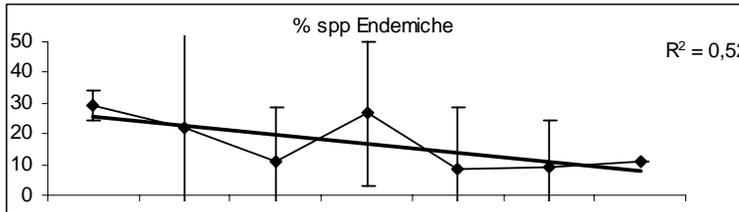
Diversità di specie



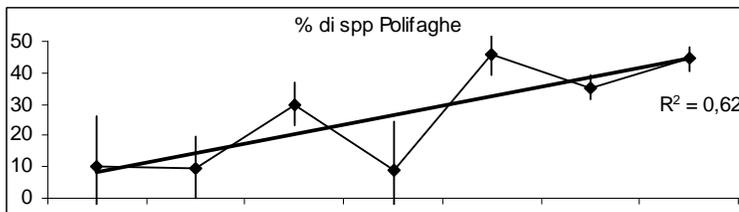
Potere di dispersione



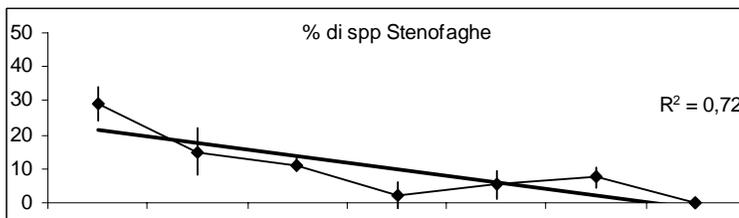
Caratteristiche biogeografiche



Opportunisti alimentari



Specializzazione alimentare



Querceto (4) Rimboschimento essenze spontanee (2) Rimboschimento essenze esotiche (4) Macchia (3) Coltivi abbandonati (4) Coltivi (4) Suolo nudo (1)

Nel grafico delle “caratteristiche biogeografiche” l'ordinata rappresenta la percentuale di specie endemiche del territorio italiano. Si evidenzia come le specie endemiche decrescono verso gli ambienti disturbati, che sono in gran parte, abitati da carabidi ad ampia distribuzione geografica. Nel grafico del “potere di dispersione”, l'ordinata rappresenta la percentuale di specie volatrici (specie macrottere più pteridimorfe), segno che un alto potere di dispersione si collega ad un elevato degrado. Nel grafico della “diversità di specie”, l'ordinata rappresenta il numero medio di specie. L'andamento del grafico, non evidenzia un impoverimento del numero di specie se non nella parte finale della sequenza.

In conclusione, sembrano essere numerosi i parametri “tipologici” utilizzabili per evidenziare attraverso i Coleotteri Carabidi il pregio naturalistico di un ambiente.

Bibliografia

- BRANDMAYR P., 1983. Entomocenosi come indicatori delle modificazioni antropiche del paesaggio e pianificazione del territorio: esempi basati sullo studio di popolamenti a Coleotteri Carabidi. Atti XII Congr. Naz. Ital. Entomo., Roma. 1980: 263-283.
- BRANDMAYR P., 1990. Degrado e recupero delle risorse Biologiche dell'Ambiente. Atti dell'11° Corso di Aggiornamento Giugno 1990. Editoriale Bios. Cosenza
- BRANDMAYR P., PIZZOLOTTO R., 1994. I Coleotteri Carabidi come indicatori delle condizioni dell'ambiente ai fini della conservazione. Atti XVII Congresso nazionale italiano di Entomologia. Udine 13-18 giugno 1994: 439-444.
- BRANDMAYR P., PIZZOLOTTO R., 1995. Arthropodes menacés, stabilité de la faune du sol et biodiversité dans les biomes méditerranéens de l'Italie du Sud: les communautés de Carabides. 6° Rencointres de l'Agence Regionale pour l'Environnement. Provence Alpes Cote d'Azur.
- BRANDMAYR P., PIZZOLOTTO R., 1998. Coleotteri Carabidi e comunità animali: due direzioni per la gestione delle risorse naturali. Atti dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia. Rendiconti, Anno XLVI – 1998
- BRANDMAYR P., ZETTO T., COLOMBETTA G., SCALERCIO S., PIZZOLOTTO R., 2002. I Coleotteri Carabidi come indicatori predittivi dei cambiamenti dell'ambiente: clima e disturbo antropico. Atti XIX Congresso nazionale italiano di Entomologia. Catania 10-15 giugno 2002 283.295.
- LORENZ W., 1998. Systematic list of extant ground beetles of the world. Tutzing, iv +503 pp
- NIEMELÄ J., KOTZE J., 2000. Globenet: the search for common anthropogenic impacts on biodiversity using carabids. In: Natural History and Applied Ecology of Carabid Beetles, Brandmayr et al. (eds):241-246
- PIZZOLOTTO R., 1994. Soil arthropods for faunal indices in assessing changes in natural value resulting from human disturbances. In: Boyle T.J.B. C.E.B. Boyle (eds), Biodiversity, Temperate Ecosystems and Global Change. Springer-VERLAG, Berlin, Heidelberg, 291-313.
- THIELE H.U., 1977. Carabid Beetles in their environments. A study on habitat selection by adaptations in Physiology and behaviour. Zoophysiology an ecology (Berlin, Heidelberg, New York)
- VIGNA TAGLIANTI A., BONAVITA P., DI GIULIO A., TODINI A., MALTZEFF P., 200. I Carabidi della tenuta Presidenziale di Castelporziano (Coleoptera Carabidae). Bollettino dell'Associazione Romana di Entomologia, 56 (1-4) (2001): 115-173.

I SAGGI DI MUTAGENESI NELLA VALUTAZIONE DELLA QUALITÀ DEI SUOLI

Anna Maria D'Agostino, Daniele Marangon, Agostino Profeta

Arpa Piemonte, Dipartimento di Torino

La valutazione della qualità dei suoli mediante l'utilizzo di saggi di mutagenesi è una tecnica di biomonitoraggio relativamente recente, la sola caratterizzazione chimica di questa matrice non consente una sufficiente stima di un possibile danno all'ecosistema pedologico. Si rende quindi necessario l'utilizzo delle prove di mutagenesi per una corretta valutazione del pericolo derivante dalla contaminazione del suolo.

L'impiego dei test di mutagenesi, tradizionalmente impiegati nella valutazione predittiva dei nuovi preparati chimici, permette una determinazione dello stress a carico del patrimonio genetico. E' noto che alcune forme tumorali siano patologie ad eziologia genetica, dovute ad alterazioni del DNA, e l'accumulo di mutazioni può indurre eventi cancerogenetici, l'incremento quindi di mutageni nell'ambiente è indice di un significativo rischio genotossico, infatti a prova di questa tesi si può focalizzare l'attenzione sull'evidente rapporto tra agenti mutageni e cancerogeni.

Il test di Ames (test di mutagenesi più utilizzato al mondo per screening genotossicologici) ha manifestato una netta correlazione tra mutageni e cancerogeni per circa il 60-80%, viene quindi generalmente accettato che una evidenza di mutagenicità indichi rischi cancerogeni, anche se si può affermare che mentre quasi tutti i composti cancerogeni sono anche mutageni, soltanto la maggior parte dei mutageni sono anche cancerogeni.

Le metodiche analitiche che valutano la comparsa di un aumento di mutazioni indotte da xenobiotici nel patrimonio genetico possono essere suddivise in "test a breve termine", Short Term Test (possono fornire risposte anche in sole 48 ore, come il test di Ames), con l'utilizzo di organismi sia procarioti (es. *Salmonella typhimurium*) sia eucarioti semplici (es. *Saccharomyces cerevisiae*) o "test a lungo termine", Long Term Test, che prevedono lo studio di popolazioni animali nel medio-lungo periodo .

L'interazione del DNA con agenti tossici presenti nella matrice suolo può provocare mutazioni a vari livelli, mutazione genica (modifica strutturale all'interno della molecola di DNA a carico del gene), mutazione cromosomica (modifica dei cromosomi con riarrangiamento o delezione di interi pezzi di materiale cromosomico) e mutazione genomica (variazione nel numero di cromosomi).

Si è quindi pervenuti all'applicazione dei test di mutagenesi in particolare "a breve termine" (per cui il rapporto costo/benefici è assolutamente favorevole) nella rilevazione di sostanze potenzialmente mutagene presenti in miscele complesse come sono i suoli di varie tipologie.

1. I SAGGI DI MUTAGENESI IN ARPA PIEMONTE

I saggi di mutagenesi utilizzati in Arpa Piemonte per la valutazione della qualità dei suoli sono principalmente il test di Ames e l'SOS chromotest, test in vitro a breve termine che utilizzano degli organismi unicellulari come i batteri, in grado di

evidenziare il comportamento di composti tossici che inducono modificazioni al DNA batterico.

Prelievo e conservazione del campione di suolo

Per quanto riguarda il prelievo, conservazione e trasporto dei campioni, le modalità sono descritte nella "Guida tecnica su metodi di analisi per il suolo e i siti contaminati"; si ribadisce la necessità di associare campioni del fondo naturale prelevati da aree adiacenti il sito contaminato, nelle quali si abbia la certezza di assenza di inquinanti.

Preparazione del campione

Costituisce un aspetto critico di queste prove, in quanto la procedura di preparazione non deve comportare una alterazione dei componenti della matrice suolo con conseguente modifica delle risultanze, in ogni caso per tutte le prove considerate si utilizza una frazione secca setacciata con pezzatura inferiore a 2 mm.

I suoli possono essere inquinati da composti scarsamente solubili in acqua, si utilizzano quindi solventi in grado di portare in soluzione questi composti, nel nostro laboratorio si fa uso di una miscela di esano/acetone (1:1).

Una aliquota variabile da 20 a 40 g di campione secco viene posta in un ditale in fibra di vetro con 250 ml di miscela estrattiva in apparato Soxhlet per almeno 8 ore, contemporaneamente si predispone un "bianco" di procedura (ditale vuoto).

L'estratto organico ottenuto (SOE Soil Organic Extract) si sottopone ad evaporazione tramite rotoevaporatore e si riprende il residuo con 1-5 ml di DMSO dimetilsolfossido; le quantità di aliquota campionaria e di DMSO possono variare a seconda delle tossicità presunte.

Per ogni ceppo batterico viene allestito un controllo negativo, costituito dai soli batteri, allo scopo di valutare la retromutazione spontanea, e un controllo positivo, costituito da un mutageno (ad es. 2aminoantracene, metilsulfonato, 4nitrochinolina) con spettro d'azione noto, per valutare la capacità interattiva con i meccanismi genetici dei batteri.

Per ogni campione, inoltre, viene eseguito un saggio in presenza dell'attivatore metabolico S9 mix al 10% allo scopo di individuare anche i mutageni ad azione indiretta, cioè quelle sostanze che esplicano la loro azione attraverso la biotrasformazione in metaboliti ad opera di enzimi epatici.

Prova di mutagenesi con *Salmonella typhimurium* - Test di Ames (Metodo OECD 471)

Il saggio di Ames è un metodo in vitro per determinare la presenza di sostanze ad effetto cancerogeno e mutageno e si basa sulla retromutazione delle colonie batteriche, utilizza una serie di ceppi batterici di *Salmonella typhimurium* LT2 modificati geneticamente e resi auxotrofi nei confronti dell'istidina.

Per il test vengono utilizzati i ceppi TA98 e TA100 che, in conseguenza alle differenti modificazioni genetiche, permettono di evidenziare classi di tossici con meccanismi di azione diversificati.

Lettura ed espressione dei risultati

I batteri auxotrofi per l'istidina, in presenza di classi di composti chimici in grado di provocare delle alterazioni genetiche di tipo frameshift o per sostituzione di basi

azotate, ripristinano una sequenza nucleotidica prossima all'allele selvatico, permettendo l'acquisizione delle funzioni catalitiche e di conseguenza la capacità di produrre istidina endogena con conseguente crescita di colonie in piastre con terreno di coltura appropriato.

La conta delle colonie che hanno subito la retromutazione avviene per mezzo di un contacolonie automatico opportunamente tarato o tramite conta manuale, dopo la lettura delle piastre si valutano le medie delle singole diluizioni riportando i dati su una retta di regressione dose-risposta ed in caso di risposta positiva al crescere della dose corrisponderà un incremento delle colonie retromutate.

I dati vengono espressi come MR (rapporto di mutagenicità) e si considera genotossico un campione che supera un valore di MR corrispondente a 1 con l'utilizzo della seguente formula: $MR = (\text{revertenti campione} - \text{rev. spontanei}) / \text{revertenti campione}$.

SOS Chromotest (Quillardett-Hoffnung, 1985)

Le lesioni al DNA attivano normalmente dei meccanismi di riparazione, indicati complessivamente come risposta SOS. L'SOS chromotest fornisce una indicazione quantitativa dell'entità dell'attivazione di questi meccanismi.

Il saggio si basa sull'utilizzo di un microrganismo (*Escherichia coli* PQ 37), sospeso in una appropriato brodo di coltura, nel quale il promotore di uno dei principali geni (*Sfi A*) coinvolti nella risposta SOS è stato posto a monte del gene della β galattosidasi.

E' un saggio quantitativo, che si basa sulla lettura spettrofotometrica dell'assorbanza di due enzimi, la β galattosidasi e la fosfatasi alcalina. Il monitoraggio dell'attività della fosfatasi alcalina fornisce indicazioni sulla tossicità del campione in esame ed elimina la possibilità di fornire dei falsi negativi.

Letture ed espressione dei risultati

Per il test si utilizzano una serie di diluizioni scalari, poste nei pozzetti di una micropiastre, del campione in esame.

Si calcola il rapporto fra le due attività enzimatiche UE β galattosidasi/ UE fosfatasi alcalina e da questo il fattore di induzione FI costituito a sua volta dal rapporto tra R dose/ R bianco, da questi dati si determina la pendenza della regione lineare della curva dose-risposta. Si considera positivo un campione con un valore di FI superiore a 2, si deve inoltre verificare un incremento della linearità della retta al crescere della dose testata.

Altri saggi di mutagenesi

Si possono utilizzare altri test di mutagenesi per la valutazione della qualità del suolo, tra questi possiamo citare il Mutatox test, la prova dei Micronuclei, direttamente su campioni di suolo, con cellule vegetali (di difficile standardizzazione).

2. RISULTATI DI UN MONITORAGGIO MUTAGENETICO DEL SUOLO

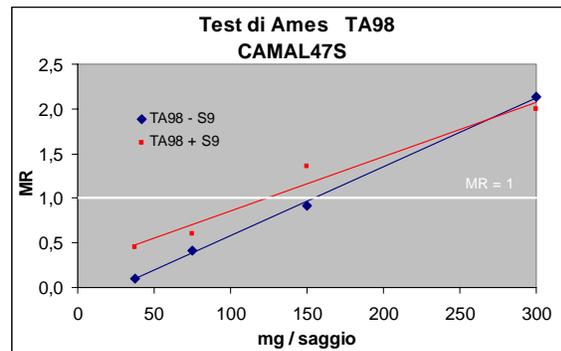
Nel corso del 2003 sono stati esaminati dei campioni di suolo prelevati in punti della Rete Regionale Di Monitoraggio Ambientale Dei Suoli.

codice campione	Tipo	Luogo
CAMTO9S	Agricolo ex frumento	Carmagnola loc. Tuninetti
CAMTO61S	Agricolo mais	Carmagnola loc. Ceraglio
CAMTO62S	Agricolo prato sfalcato	None cascina Rondellino
CAMTO63S	Agricolo bosco	None cascina Randellino
CAMTO64S	Agricolo bianco	Stupinigi c/o castello SS23
CAMAL47S	Industriale contaminato	Novi Ligure (AL)
CAMAL48S	Industriale contaminato	Novi Ligure (AL)
CAMAL49S	Industriale bianco	Novi Ligure (AL)

La totalità dei campioni analizzati ha fornito risultati negativi con il test di Ames per il ceppo TA100 e con l'SOS chromotest, mentre i campioni con codice CAMTO61S, CAMTO63S, CAMTO64S e CAMAL47S hanno evidenziato una risposta mutagenetica significativa unicamente con il ceppo TA98 con e senza attivatore metabolico.

Si riportano a titolo di esempio i dati ed i grafici relativi al campione con codice CAMAL47S.

Dose mg/piastra	TA 98 – S9 MR	TA 98 + S9 MR
300	2,14	2,00
150	0,92	1,36
75	0,42	0,61
38	0,10	0,45

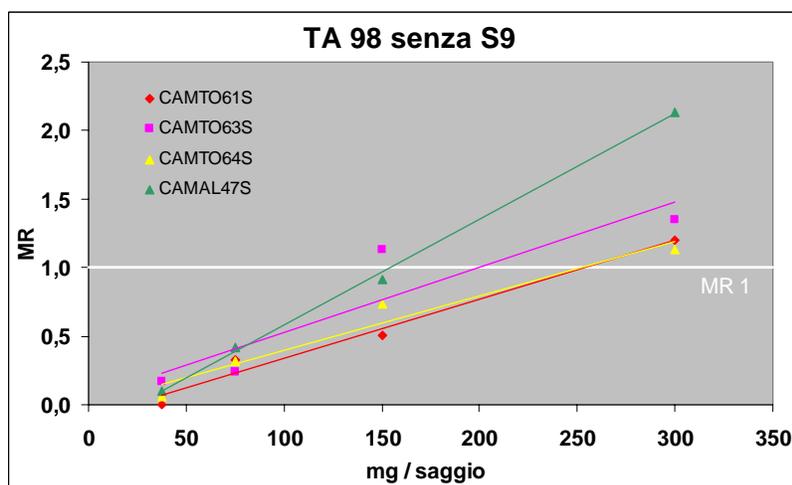
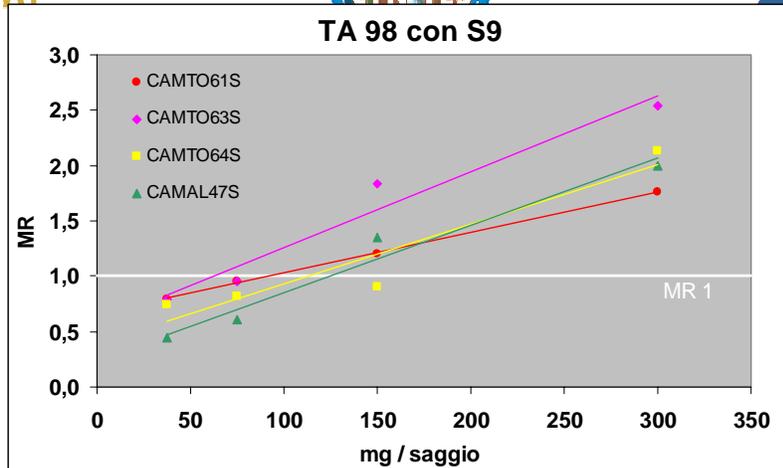


Il grafico evidenzia l'elevata risposta del campione al test di Ames con il ceppo TA 98 con e senza attivazione metabolica, rilevando la presenza di composti mutageni che provocano frameshift con meccanismo d'azione sia diretto che indiretto.

Nei grafici seguenti vengono comparati i campioni risultati positivi al test di Ames con il ceppo TA98 sia in presenza che in assenza di attivatore metabolico S9.

Sono stati considerati positivi i campioni nei quali si è osservato un incremento della risposta (MR) relativamente all'incremento della dose (valutazione del coefficiente di determinazione $r^2 > 0,8$) ed inoltre è stato osservato in almeno una dose testata un aumento del rapporto di mutagenicità del doppio rispetto al bianco (MR = 1).

La genotossicità riscontrata è presumibilmente legata alla presenza di composti organici non analizzati chimicamente.



Il campione contrassegnato con il codice CAMAL47S ha mostrato valori elevati per altre tipologie di indagine, in particolare ha fornito valori elevati di tossicità con il test algale con *Pseudokirchneriella subcapitata*, sensibile alla presenza di metalli, confermati dall'analisi chimica.

Si evidenzia inoltre un elevato valore mutagenetico del campione CAMTO64S prelevato come bianco di riferimento, la cui positività potrebbe essere dovuta alla residua presenza di pesticidi ed altri prodotti fitosanitari.

L'esperienza acquisita in questa parziale campagna di monitoraggio verrà messa a frutto per altre indagini.

Bibliografia

Ames, Mc Cann, and Yamasaki, 1975. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian - microsome mutagenicity test. *Mutation Res.* 31, 347-364.

- Kier, Brusik, Aualetta, Von Halle, Brown, Simmon, Dunkel, Mc Cann, Mortelmans, Prival, Rao, and Ray, 1986. The Salmonella typhimurium/mammalian microsomal assay. A report of the U.S. US-EPA genotox program. *Mutation Res.* 168, 69-240.
- Maron and Ames, 1983. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutation Res.* 113, 173-215.
- Mc Cann, Choi, Yamasaki, and Ames, 1975. Detection of carcinogens as mutagens in the Salmonella/microsome test: assay of 300 chemicals. *Proc.Natl. Acad.Sci. USA* 72, 5135-5139.
- Miertus, Svorc, Sturdik, and Vojtekova, 1987. Use of specific bacteria for the determination of mutagenic and carcinogenic compounds. *Anal.Chem.*59, 504-508.
- Mohn, 1981. Bacterial system for carcinogenicity testing. *Mutation Research*, 87, 191-210.
- Nunoshiba, and Nishioka, 1991. Rec-lac test for detecting SOS-inducing activity of environmental genotoxic substances. *Mutation Research*, 254, 71-77.
- Quillardett-Hoffnung, 1985. The SOS chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxic procedures. *Mutation Research*, 147, 65-78.
- Quillardett-Hoffnung, 1988. The screening, diagnosis and evaluation of genotoxic agents with batteries of bacterial tests. *Mutation Research*, 205, 107-118.
- Rossi D., Paganetto G. (2002). Valutazione di agenti genotossici chimici con test *in vitro* a breve termine (Short-Term Tests). *Biologi Italiani*, 2, 18-25
- Roberfroid, M. and Rosenkranz, H.S., 1986. Short-term assays using bacteria. Long-term assays for carcinogens: a critical appraisal. *IARC Sci. Publ.* Lyon 83, 143-161.
- Jarvis, 1995. A comparison of the Ames assay and Mutatox in assessing the mutagenetic potential of contaminated dredged material. *US Army Corps of Engineers Technical report D-95-1* April 1995.
- Thomas Johnson B., 1992. Potential Genotoxicity of Sediments from the Great Lakes. *Environmental Toxicology and Water Quality* vol. 7, 373-390.
- Thomas Johnson B., 1991. An evaluation of a genotoxicity assay with liver S9 for activation a luminescent bacteria for detection. *Environmental Toxicology and Chemistry* vol.II, pp 473-480.

66[R11]Manca l'unità di misura nelle ordinate. O è riferita al controllo? Precisare
68[R12]Manca l'unità di misura nelle ordinate. O è riferita al controllo? Precisare